

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



OBTENCIÓN DE UNA HARINA FUNCIONAL RICA EN PROTEÍNAS DE BUENA CALIDAD BIOLÓGICA Y DE ALTO VALOR NUTRICIO A BASE DE CEREALES Y LEGUMINOSAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON *Pleurotus ostreatus*.

Por

EDITH ESPINOSA PÁEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS

Marzo 2018

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



OBTENCIÓN DE UNA HARINA FUNCIONAL RICA EN PROTEÍNAS DE BUENA CALIDAD BIOLÓGICA Y DE ALTO VALOR NUTRICIO A BASE DE CEREALES Y LEGUMINOSAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON *Pleurotus ostreatus*

Por

EDITH ESPINOSA PÁEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS

Marzo 2018

OBTENCIÓN DE UNA HARINA FUNCIONAL RICA EN PROTEÍNAS DE BUENA
CALIDAD BIOLÓGICA Y DE ALTO VALOR NUTRICIO A BASE DE CEREALES
Y LEGUMINOSAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON *Pleurotus ostreatus*

Comité de Tesis

Dra. María Guadalupe de J. Alanís Guzmán

Presidente

Dr. Carlos Eduardo Hernández Luna

Secretario

Dr. Juan Gabriel Báez González

1er. Vocal

Dra. Claudia Tomasa Gallardo Rivera

2o. Vocal

Dra. Blanca Edelia González Martínez

3er Vocal

Marzo 2018

OBTENCIÓN DE UNA HARINA FUNCIONAL RICA EN PROTEÍNAS DE BUENA
CALIDAD BIOLÓGICA Y DE ALTO VALOR NUTRICIO A BASE DE CEREALES
Y LEGUMINOSAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON *Pleurotus ostreatus*

POR

EDITH ESPINOSA PÁEZ

**Presenta como requisito parcial para obtener el grado de DOCTOR EN
CIENCIAS**

Con acentuación en Alimentos

DRA. MARÍA GUADALUPE DE J. ALANÍS GUZMÁN
Directora

DR. CARLOS EDUARDO HERNÁNDEZ LUNA
Codirector

Marzo 2018

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ma. Guadalupe Alanís, por aceptarme como su alumna por su dirección, apoyo y guía en el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Carlos Hernández Luna por su guía, paciencia, enseñanzas y por todo su apoyo.

A todos mis asesores que me acompañaron a lo largo de este camino, a la Dra. Blanca E. González, al Dr. Juan Baéz, al Dr. Carlos García y la Dra. Claudia Gallardo, gracias por transmitirme sus conocimientos y por su apoyo, que me permitieron llegar hasta aquí. Y agradezco también al Dr. Carlos Abel Amaya Guerra, por su asesoría y apoyo para la determinación de aminoácidos.

Al Laboratorio de Alimentos del Departamento de Alimentos, al Laboratorio de Enzimología del Departamento de Química de la FCB de la UANL, por brindar sus instalaciones para la realización del proyecto. Así mismo, un agradecimiento especial al Laboratorio de Ciencias de Alimentos del CINSP de la FaSPyN, por las facilidades otorgadas para la realización de algunos experimentos.

A CONACYT, por la beca de manutención y la beca mixta otorgadas para realización de este doctorado y de la estancia académica realizada en Valencia.

A la Dra. Ana Andrés Grau y su equipo de trabajo, por el apoyo técnico y científico brindado en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la Ciudad Politécnica de la Innovación, en la Universidad Politécnica de Valencia.

A mis padres, Bertha y Guillermo, y a mis hermanos, Bertha, Claudia, Vero, Félix y Pablo, por estar siempre conmigo, por todo su apoyo y su paciencia durante este proceso.

A mis amigas y compañeras del posgrado, Ale, Cynthia, Jeny, Vero e Irasema, con quien compartí momentos increíbles y que sin las cuales, este camino no hubiera sido el mismo.

A todos mis amigos y compañeros, que de una u otra manera, formaron parte de esta aventura.

Gracias infinitas a todos...

DEDICATORIAS

A Dios, quien le da sentido a mi vida.

A mis padres, Bertha y Guillermo, por apoyarme siempre en todos mis proyectos y por siempre estar para mí. Gracias infinitas por su amor, sin ustedes, no sería quien soy.

AREA DE TRABAJO

La realización del trabajo práctico se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos del Departamento de Alimentos y en el Laboratorio de Enzimología del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L., México. Se realizó una estancia académica en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la Ciudad Politécnica de la Innovación, en la Universidad Politécnica de Valencia, en Valencia, España.

INDICE

Capítulo	Página
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
1. Alimentos funcionales	4
2. Propiedades funcionales	4
1. Digestibilidad de la proteína	6
3. Cereales	8
1. Avena (<i>Avena sativa</i>)	9
2. Propiedades nutricionales y funcionales de la avena	10
4. Leguminosas	11
1. Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	13
2. Propiedades nutricionales y funcionales del frijol	16
3. Componentes antinutrimientales del frijol	17
4. Digestibilidad de la proteína del frijol	18
5. Fermentación	18
1. Fermentación en estado sólida o semisólida	19
6. Hongos comestibles	21
1. <i>Pleurotus ostreatus</i>	21
2. Propiedades nutricionales de <i>P. ostreatus</i>	22
3. Calidad proteica de <i>P. ostreatus</i>	25
4. Propiedades antioxidantes de <i>P. ostreatus</i>	26
7. Estudios previos de cereales y leguminosas fermentadas	26
3. JUSTIFICACIÓN	29

4. HIPÓTESIS	30
5. OBJETIVOS	31
6. MATERIALES Y MÉTODOS	32
1. Estrategia experimental	32
2. Semillas, microorganismos y mantenimiento	34
3. Producción del inóculo	34
4. Análisis químico proximal	36
5. Nitrógeno soluble	36
6. Contenido de taninos	37
7. Hidrolisis de la proteína	37
8. Perfil de aminoácidos	37
9. Digestión simulada	38
1. Digestibilidad de la proteína <i>in vitro</i>	38
10. Actividad antioxidante	38
11. Contenido de fenoles totales	39
12. Capacidad de absorción de agua	39
13. Capacidad de absorción de aceite	39
14. Capacidad emulsificante	40
15. Obtención de las formulaciones	40
16. Elaboración de producto	40
17. Evaluación sensorial del producto	41
18. Evaluación nutricional del producto	42
19. Análisis estadístico	42
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
1. Resultados etapa 1	43

1.	Análisis proximal de cereales y leguminosas	43
2.	Estandarización del método de esterilización	44
2.	Resultados etapa 2	44
1.	Análisis químico proximal	45
2.	Hidrólisis de la proteína	47
3.	Perfil de aminoácidos	50
4.	Digestibilidad de la proteína	51
5.	Actividad antioxidante y fenoles totales	53
6.	Capacidad de absorción de agua, de aceite, capacidad emulsificante y Ph	56
3.	Resultados etapa 3	57
1.	Evaluación sensorial del producto	58
2.	Evaluación nutricional del producto	65
	CONCLUSIONES	67
	PRESPECTIVAS	68
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	69
	ANEXO	85
	RESUMEN AUTOBIOGRAFICO	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Valores para la digestibilidad de la proteína en humanos.	8
2. Contenido de energía, macronutrientes y fibra de leguminosas comunes	12
3. Contenido de vitaminas de leguminosas comunes	12
4. Características de calidad del frijol común	15
5. Ventajas de la fermentación en estado sólido	19
6. Composición de aminoácidos de <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
7. Prueba 1 para la estandarización del método de esterilización	35
8. Prueba 2 para la estandarización del método de esterilización	35
9. Prueba 3 para la estandarización del método de esterilización	36
10. Formulaciones usadas en la elaboración de una tostada	41
11. Componentes nutricionales de cereales y leguminosas	43
12. Bioconversión de los granos de micelio	45
13. Componentes nutricionales de las diferentes harinas obtenidas	47
14. Efecto del <i>Pleurotus ostreatus</i> en el perfil de aminoácidos	50
15. Digestibilidad de la proteína, nitrógeno soluble y taninos	52
16. Efecto del <i>Pleurotus ostreatus</i> en el contenido de fenoles totales	55
17. Efecto del <i>Pleurotus ostreatus</i> en la actividad antioxidante	55
18. Capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, capacidad emulsificante y pH	57
19. Puntuación aminoacídica de las formulaciones de las harinas	58
20. Formulaciones con mayor puntuación aminoacídica	58

21. Formulaciones de la segunda evaluación sensorial	62
22. Evaluación nutricional del producto	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Selección de cereales y leguminosas	33
2. Aplicación del método de fermentación	33
3. Selección de formulaciones	34
4. Gráfica de hidrolisis enzimática de proteína en el frijol negro con <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
5. Gráfica de hidrolisis enzimática de proteína en el frijol bayo con <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
6. Gráfica de hidrolisis enzimática de proteína en la avena con <i>Pleurotus ostreatus</i>	49
7. Gráfica de hidrolisis enzimática de proteína en cereales y leguminosas con y sin <i>Pleurotus ostreatus</i>	49
8. Escala hedónica de la primera evaluación sensorial para los tratamientos de tostadas con diferentes formulaciones	60
9. Nivel de agrado de la primera evaluación sensorial para los tratamientos de tostadas con diferentes formulaciones	61
10. Escala hedónica de las tostadas con las formulaciones elegidas	63
11. Nivel de agrado de las tostadas con las formulaciones elegidas	63
12. Escala hedónica para nivel de agrado y aceptabilidad de las tostadas elaboradas con las formulaciones elegidas	64

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
AOAC	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
AVG	Avena en grano
AVGP	Avena en grano con <i>Pleurotus ostreatus</i>
CAE	Código Alimentario Español
GLC	Cromatografía gas-líquido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FGS	Fluido gástrico simulado
FIRA	Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura
FIS	Fluido intestinal simulado
FOS	Fluido oral simulado
FOSHU	Alimentos para uso específico de salud
FB	Frijol bayo
FBP	Frijol bayo con <i>Pleurotus ostreatus</i>
FN	Frijol negro
FNP	Frijol negro con <i>Pleurotus ostreatus</i>
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
MS	Espectometría de masas
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas

TCA	Ácido trocloroacético
PDCAAS	Digestibilidad de la proteína corregido por puntuación aminoacídica
PER	Proporción de eficiencia de proteínas
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SIACON	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SMF	Fermentación sumergida
SSF	Fermentación en estado sólido
UIN	Unidad de Inteligencia de Negocios
167T	Formulación FN/AVGP 50:50
344Y	Formulación FBP/AVG 40:60
482F	Formulación FBP/AVG 60:50
432R	Formulación FN/AVGP 40:60
598D	Formulación FNP/AVG 40:60
673Z	Formulación FN/AVGP 60:50
708L	Formulación FNP/AVG 60:50
708L	Formulación FNP/AVG 50:50
992E	Formulación FBP/AVG 50:50
112S	Formulación FB/AVG 50:50 1c chile en/tz
251M	Formulación FN/AVG 50:50 con 2c chile en/tz
324Z	Formulación FBP/AVG 50:50 con 2c chile en/tz
580V	Formulación FNP/AVG 50:50 con 2c chile en/tz
490F	Formulación FB/AVG 50:50 con 2c chile en/tz
680P	Formulación FN/AVG 50:50 con 2c chile en/tz
720G	Formulación Maíz 100% con 2c chile en/tz
930N	Formulación FN/AVGP 50:50 con 2c chile en/tz

RESUMEN

La necesidad de ingredientes y alimentos funcionales en el mundo actual es clara, debido a que los consumidores cada vez más buscan productos alimenticios que contribuyan a su salud y bienestar, lo que aunado al envejecimiento de la población y al incremento de las enfermedades crónico degenerativas, hace de este nicho de mercado uno de los de mayor potencial de crecimiento mundial. Por lo que la industria alimentaria se ha enfocado en el desarrollo de ingredientes y alimentos que proporcionen beneficios nutricionales y de salud a los consumidores. El objetivo de la presente investigación, fue elaborar una harina rica en proteínas de buena calidad biológica utilizando leguminosas, cereales y tratamientos de fermentación con *Pleurotus ostreatus* para su potencial utilización como ingrediente funcional en la elaboración, fortificación y/o enriquecimiento de productos para nutrición humana. Se trabajó con frijol negro, frijol bayo y avena, por su tradicional uso en la dieta, características nutricias-funcionales y disponibilidad. Los ingredientes mencionados se caracterizaron química y nutricionalmente, antes y después de la fermentación con *P. ostreatus*, a fin de evaluar el efecto de la actividad y presencia del hongo en el frijol y la avena, esto bajo la siguiente hipótesis: Los productos de la fermentación con cereales y leguminosas con *Pleurotus ostreatus* son más ricos en proteína de buena calidad biológica y alto valor nutritivo que los granos nativos y pueden ser utilizados como ingrediente funcional. Utilizando la mejor selección de las harinas fermentadas y sin fermentar, se calcularon formulaciones y se evaluaron química y funcionalmente, obteniendo así la harina o ingrediente funcional, objetivo de esta investigación.

ABSTRACT

Actually, there is a clear need for functional foods in the world, because consumers look for food products that contribute to their health and well-being, which together with the aging of the population and the increase of chronic degenerative diseases, makes this market niche one of the greatest potential for global growth. So the food industry has focused on the development of ingredients and foods that provide nutritional and health benefits to consumers. The objective of this research was to make a flour rich in proteins of good biological quality using beans, oats and fermentation treatments with *Pleurotus ostreatus* for its potential use as a functional ingredient in the preparation, fortification and / or enrichment of products for human nutrition. Beans and oats, were used for their traditional use in the diet, nutritional-functional characteristics and availability. These ingredients were characterized chemically and nutritionally, before and after fermentation with *P. ostreatus* and to evaluate the effect of the activity and presence of fungus in the beans and the oats, this under the following hypothesis: fermentation with cereals and legumes with *Pleurotus ostreatus* are more rich in protein of good biological quality and high nutritional value than native grains and can be used as a functional ingredient. Using the best selection of fermented and unfermented flours, formulations were calculated and evaluated chemically and functionally, obtaining the flour or objective functional ingredient of this research.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, los alimentos no solo pretenden satisfacer el hambre y proporcionar los nutrientes necesarios para los seres humanos, sino también prevenir enfermedades relacionadas con la nutrición y el bienestar mental y físico (Betoret et al. 2011). Cada vez más consumidores saben que los alimentos contribuyen directamente a su salud, por lo que en las últimas décadas, las demandas de los consumidores en el campo de la producción de alimentos han cambiado considerablemente (Mollet y Rowland, 2002) por lo tanto, los alimentos funcionales se han definido como "alimentos modificados o que contienen ingredientes que beneficia y aumenta el bienestar del individuo o disminuyen el riesgo de enfermedad, más allá de la función tradicional de los ingredientes que contienen (Caballero et al. 2013; Hasler et al. 2009). Las leguminosas, en particular *Phaseolus vulgaris*, son una de las principales fuentes de proteínas vegetales disponibles en los países en desarrollo (Caballero et al. 2013). *P. vulgaris* también se ha asociado con diversos beneficios para la salud, reducción del riesgo de diabetes y enfermedades cardiovasculares, atribuido a la presencia de polifenoles y compuestos bioactivos (Xu et al. 2007; Herrera et al. 2014). Sin embargo, *P. vulgaris* contiene factores antinutricionales como inhibidores de tripsina, quimotripsina, amilasa, lectinas, fitatos y taninos. (Yu-Wei y Wei-Hua, 2012), que disminuyen la digestibilidad de la proteína. Las combinaciones de cereales y leguminosas ofrecen proteínas de alta calidad debido a la compensación de sus aminoácidos esenciales, por lo que el desarrollo de formulaciones es una buena alternativa para suplementación nutricional.

La avena es un cariopse herbáceo, cuyo fruto se utiliza para la alimentación, es el cereal con mayor porcentaje de grasa, donde el 65% de ácidos grasos son insaturados y el 35% corresponde a ácido linoléico. Tiene una variedad de minerales, oligoelementos y vitaminas como magnesio, hierro, zinc, cuya función es ayudar a reestructurar el fósforo de la membrana celular, para la energía celular (López et al. 2006).

Los hongos se han utilizado como alimento desde tiempos inmemoriales, son considerados como una fuente de alimento con un valor incalculable por su calidad nutricional (Royse 1997), son bajos en calorías y ricos en carbohidratos, aminoácidos esenciales, fibra, vitaminas y minerales (Beetz y Kustudia 2004; Sharma et al. 2013). Bermúdez et al. 2003, indica que existen especies de *Pleurotus* que son potentes agentes biológicos que convierten los productos orgánicos no alimentarios en productos para alimentación humana. También son capaces de sintetizar una mayor proporción de aminoácidos esenciales dando un balance total de aminoácidos positivo, además mejora del sabor y pueden crecer en una variedad de sustratos como la paja (trigo, avena y arroz), serrín, desperdicios de algodón, heno, hojas de plátano, tallos de maíz y otros desechos agrícolas y una amplia gama de condiciones ambientales (Bautista et al. 1997).

Pleurotus ostreatus es el segundo hongo comestible más importante en Europa, tiene un alto contenido nutricional como minerales, vitaminas y proteínas (Romero et al. 2000). También tiene un sabor agradable, que lo hace aceptable en muchas partes del mundo. La producción de alimentos fermentados es una de las más antiguas tecnologías de procesamiento de alimentos (Certík et al. 2006) es un proceso económico y simple que causa cambios químicos y modifica la funcionalidad de los alimentos (Dávila et al. 2003). Muchos de estos alimentos son fabricados por su sabor único, aroma y textura, atributos que son muy apreciados por el consumidor. Además, dado que los hongos filamentosos disminuyen simultáneamente compuestos anti-nutrientes y sustratos de biopolímeros parcialmente hidrolizados, el subproducto de la fermentación puede ser utilizado como alimento barato y como suplemento para apoyar las demandas de comercialización (Certík et al. 2006). Considerando lo anterior el objetivo de la presente investigación fue elaborar una harina rica en proteínas de buena calidad biológica utilizando frijol, avena y tratamientos de fermentación con *Pleurotus ostreatus* para su potencial utilización como ingrediente funcional en la elaboración, fortificación y/o enriquecimiento de productos para nutrición humana.

2. ANTECEDENTES

2.1 Alimentos funcionales

El término Alimento funcional, fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's, con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y se refiere a aquellos alimentos procesados, los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental. Los alimentos de este tipo son reconocidos porque llevan un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar del gobierno japonés (Mollet y Rowland 2002).

Las causas que originaron esta revolución de los alimentos funcionales son diversas: 1) el público que se preocupa más por su salud y compra alimentos con valor agregado al nutricional, 2) las organizaciones encargadas de legislar en materia de alimentos están reconociendo los beneficios de los alimentos funcionales a la salud pública, 3) el gobierno está poniendo atención en este renglón, ya que prevé el potencial económico de estos productos como parte de las estrategias de prevención de la salud pública. Otros factores que también contribuyen en el "boom" de los alimentos funcionales, incluyen los grandes avances tecnológicos, entre ellos la biotecnología, así como la investigación científica que documenta los beneficios para la salud de estos alimentos (Alvidrez et al. 2003).

Se han desarrollado categorías de alimentos funcionales desde el punto de vista del producto y su propiedad funcional. También se pueden clasificar porque "agregan bien a su vida", es decir mejoran las funciones regulares del estómago y del colon como los pre y probioticos o "mejoran la vida de los niños" apoyando la capacidad de aprendizaje y comportamiento. Otro grupo de alimentos funcionales está diseñado para reducir algún problema existente de riesgo para la salud, como el colesterol alto o presión arterial alta. Un tercer grupo consiste en los productos, que "hacen su vida más fácil" por ejemplo, sin lactosa, sin gluten (Granato et al. 2010). Dentro de los diferentes grupos de alimentos funcionales encontramos también a los cereales como la avena y a la cebada que ofrecen otra alternativa para la producción de este tipo de productos. Los beneficios múltiples y

los efectos de los cereales pueden explotarse de diferentes maneras, como la producción de nuevos alimentos a base de cereales o ingredientes de cereales para poblaciones específicas (Siró et al. 2008).

2.2 Propiedades funcionales

Las propiedades funcionales son ciertas características fisicoquímicas de algunos componentes del alimento, que influyen de un modo específico sobre su apariencia y comportamiento. Por ejemplo, el contenido, tipo y disponibilidad de nutrimentos como las proteínas, grasas, carbohidratos, fibra, agua, minerales; actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales; y capacidad emulsificante, capacidad de absorción de grasa, capacidad de absorción de agua, estos últimos asociados directamente con la presencia de proteínas en el alimento (Ramírez et al. 2009). Los ingredientes que hacen que los alimentos sean funcionales son proteínas, fibras dietéticas, vitaminas, minerales, antioxidantes, oligosacáridos, ácidos grasos esenciales como omega-3, cultivos de bacterias de ácido láctico y ligninas. Muchos de estos están presentes en plantas medicinales (Lobo et al. 2010).

Las propiedades funcionales de las proteínas de los alimentos se han explotado en la preparación y desarrollo de productos tales como productos de panadería, sopas, productos extruidos y bocadillos listos para el consumo (Boye et al. 2010). Los ingredientes de proteína en los alimentos deben poseer propiedades funcionales para aplicaciones y elaboración de productos alimenticios y la aceptabilidad del consumidor. Las características fisicoquímicas de los alimentos afectan al comportamiento de la proteína en los sistemas alimentarios durante procesamiento, fabricación, almacenamiento y preparación, por ejemplo, absorción, solubilidad, gelificación, emulsificación, etc. Estas propiedades reflejarán la composición, la conformación de las proteínas y sus interacciones con otros componentes de alimentos, y se ven afectados por los tratamientos de procesamiento y el medio ambiente, debido a que las propiedades funcionales están influenciados por la composición, estructura y conformación de las proteínas (Philips et al. 1994).

La fibra dietética también se considera una propiedad funcional, es la parte del material vegetal de los alimentos que es resistente a la digestión enzimática, esta incluye celulosa, polisacáridos no celulósicos tales como hemicelulosa, sustancias pécticas, gomas, mucílagos y lignina. Las dietas ricas en fibra como cereales, nueces, frutas y verduras tienen un efecto positivo en la salud ya que su consumo se ha relacionado con disminución de la incidencia de varias enfermedades. Ésta puede ser utilizada en diversos alimentos funcionales como panadería, bebidas y productos cárnicos. Diferentes tratamientos de procesamiento como extrusión-cocinado, enlatado, molienda, pueden alterar las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y mejorar su funcionalidad (Devinder et al. 2012).

Los antioxidantes sintéticos y naturales de los alimentos se usan de forma rutinaria en alimentos y medicamentos, especialmente aquellos que contienen aceites y grasas para proteger los alimentos contra la oxidación. Hay varios ejemplos de antioxidantes fenólicos sintéticos, que han sido ampliamente utilizados como antioxidantes en la industria alimentaria y debido al aumento de los factores de riesgo del ser humano a diversas enfermedades mortales, ha habido una tendencia mundial hacia el uso de sustancias naturales, presentes en plantas medicinales y plantas dietéticas como antioxidantes terapéuticos (Lobo et al. 2010).

Los antioxidantes previenen el daño tisular inducido por radicales libres previniendo la formación de radicales, promoviendo su descomposición (Alam et al. 2012). Los radicales libres se derivan de procesos metabólicos esenciales normales en el cuerpo humano o de fuentes externas, como la exposición a los rayos X, el ozono, el tabaquismo, los contaminantes del aire y los productos químicos industriales, se producen continuamente en las células como consecuencia de reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Lobo et al. 2010). El daño de los radicales libres contribuye a la etiología de muchos problemas de salud crónicos, como enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, cataratas y cáncer. Las propiedades funcionales de los alimentos y harinas están normalmente asociados a la interacción entre agua / aceite. También están asociados a las propiedades relacionadas con la estructura proteica, las características reológicas, la superficie de la proteína y la

compatibilidad con los componentes de otros alimentos. Están altamente relacionadas con los parámetros estructurales, como el volumen total de poros, porosidad, tamaño de partícula, distribución y presencia de partículas finas (Nguyen et al. 2015). Estas propiedades juegan un papel importante en el proceso de preparación de los alimentos, ya que influye en otras propiedades funcionales y sensoriales (Chau 1998).

La capacidad emulsificante es una propiedad funcional importante de una proteína. Esta propiedad puede expresarse como capacidad emulsionante y estabilidad de la emulsión. Refleja la capacidad de las proteínas para absorberse rápidamente en la interfaz aceite / agua durante la formación de un emulsión. En general, las propiedades emulsificantes están muy relacionadas con la solubilidad acuosa de las proteínas y la hidrofobicidad y se han utilizado como de emulsificación de las proteínas (Shevkani et al. 2014).

2.2.1 Digestibilidad de la proteína

El valor biológico de una proteína depende fundamentalmente de su composición en aminoácidos esenciales. Conocida ésta es posible predecir, dentro de ciertas limitaciones, su comportamiento en el organismo; para ello solo es necesario contar con un adecuado patrón de comparación.

En la evaluación de la calidad de una proteína alimenticia, se deben considerar dos factores: su contenido en aminoácidos esenciales y su digestibilidad. El valor biológico de una proteína depende de la composición de aminoácidos y de las proporciones entre ellos y es máximo, cuando estas proporciones son las necesarias para satisfacer las demandas de nitrógeno para el crecimiento, la síntesis, y reparación tisular. El valor biológico, está además condicionado por las diferentes velocidades de recambio de aminoácidos en los distintos tejidos, y por consiguiente no es una constante, sino que es influido por la especie, la edad y el estado fisiológico del individuo (Suárez et al. 2006).

El otro factor que condiciona la utilización de las proteínas alimenticias, modificándolas en forma variable es la digestibilidad. La digestibilidad será igual a 100 cuando el nitrógeno ingerido sea totalmente absorbido. El contenido en nitrógeno en las heces representa la cantidad no absorbida, es decir la proporción de proteínas que por sus características físicas o propiedades químicas, resistieron el ataque de las enzimas proteolíticas. Parte de estas pérdidas fecales representan las pérdidas obligatorias de nitrógeno que proviene de las secreciones endógenas (López et al. 2006).

En la actualidad, el método sugerido para evaluar la calidad proteica, es la calificación del cómputo químico o puntuación de aminoácidos corregido por digestibilidad proteica (protein digestibility corrected amino acid score) o PDCAAS. Este método fue propuesto en 1991 por la FAO y ha reemplazado al PER como la norma para calcular el porcentaje del valor diario de proteína en el rotulado de los alimentos para adultos y niños mayores de un año de edad. Para cumplir con los requerimientos proteicos más rigurosos, el PDCAAS compara el perfil de aminoácidos de una proteína en estudio con las necesidades del niño mayor a un año que representan los requerimientos más exigentes de los diferentes grupos a excepción de los lactantes que se comparan con la leche humana. El PDCAAS más alto que puede recibir una proteína es 1.0. Las calificaciones por encima de 1.0 se nivelan pues todos los aminoácidos en exceso no son utilizados para síntesis de tejidos, sino que son desaminados y oxidados para ser utilizados en el metabolismo energético o almacenados como tejido adiposo. El PDCAAS se calcula multiplicando el valor correspondiente a la puntuación por el valor correspondiente a la digestibilidad.

En la práctica nutricional no se dispone de información recopilada y actualizada con respecto a los valores de puntuación y PDCAAS de los alimentos habitualmente utilizados en los planes de alimentación. Los datos disponibles de puntuación en su mayoría se basan en la comparación con la proteína del huevo y resultan por lo tanto inferiores a los calculados según el patrón de aminoácidos esenciales propuesto por la FAO en 85 y por la Academia Nacional de Ciencias en 2002 (FAO/OMS/ONU 2007). Existen valores de digestibilidad de alimentos ya establecidos (Tabla 1).

Tabla 1. Valores para la digestibilidad de proteína en humanos

Alimento	Puntuación (%)	Alimento	Puntuación (%)
Frijoles	78	Cereal avena	95
Dieta mixta americana	96	Crema de cacahuete	72
Dieta mixta brasileña	78	Cacahuates	95
Dieta mixta china	96	Cereal arroz	94
Cereal maíz	70	Harina de soya	86
Maíz	87	Proteína aislada de soya	95
Semillas de algodón	90	Harina blanca trigo	96
Huevo	97	Gluten, trigo	99
Harina	99	Cereal trigo	7
Maíz + frijoles	78	Trigo refinado	96
Maíz + frijoles + leche	84	Trigo	86
Carne, pescado	94		

(FAO/WHO/UNU 2007).

2.3 Cereales

Los cereales son plantas que producen cereales comestibles, como la avena, trigo, centeno, arroz o maíz, los granos de cereales proporcionan, la mayoría de los alimentos calóricos del mundo y aproximadamente la mitad de sus proteínas. Se consumen directamente o modificados de distintas formas (harina, almidón, aceite, salvado, jarabes de azúcar y un gran número de ingredientes utilizados en la fabricación de alimentos) constituyendo la mayor parte de la dieta (Potter 1995).

Entre los cereales más utilizados en la alimentación humana se encuentran el trigo (*Triticum vulgare*), la cebada (*Hordeum vulgare*), el arroz (*Oryza sativa*), el maíz (*Zea mays*), el centeno (*Secale cereale*), el mijo y la avena (*Avena sativa*). El trigo y el centeno son adecuados para fabricar productos de panadería. Los demás cereales se utilizan en

otras formas. Por ejemplo elaboración de papillas, productos para el desayuno, etc. La composición química de los cereales depende de la variedad de cereal. El componente más abundante de los cereales es el almidón y de hecho, junto con las legumbres y las papas, son importantes fuentes de este polisacárido. Sin embargo su contenido difiere de unos cereales a otros, encontrándose en menos cantidad en la avena, cebada y el centeno, en los que aumenta el contenido en otros hidratos de carbono, especialmente en polisacáridos no amiláceos. Los lípidos se encuentran en baja cantidad, alrededor del 2-3%, aumentando en la avena. En cuanto al contenido de agua nunca podrá tener más del 14% ya que el grano se puede enmohecer. Por otro lado el grupo de vitaminas y especialmente las del grupo B, que son las más abundantes difieren entre unos cereales y otros (Charalampopoulos et al. 2002).

Los cereales pueden utilizarse como sustratos fermentables para el crecimiento de microorganismos probióticos. Además, los cereales pueden ser aplicados como fuentes de carbohidratos no digeribles, que además de promover varios efectos fisiológicos beneficiosos, también pueden estimular selectivamente el crecimiento de lactobacilos y bifidobacterias presentes en el colon y actúan como prebióticos. Los cereales también contienen fibra y almidón resistente (Siró et al. 2008).

2.3.1 Avena

La avena (*Avena sativa L.*) es una gramínea cuyo fruto cariopse se utiliza tanto para la alimentación como para efectos terapéuticos (López et al. 2006). Actualmente en México se producen en promedio 130 mil toneladas, teniendo el lugar 27 en el mundo respecto su producción. La producción per cápita promedio es de 1.2 kilogramos (SAGARPA-SIACON 2013). Es un buen cereal que contiene más proteína que el maíz, el arroz o el trigo, pero además tiene una considerable cantidad de ácido fítico, lo cual puede interferir en la absorción de hierro y calcio. La harina de avena se usa en la elaboración de pan, cereales para el desayuno listos para comer y aperitivos. La avena también puede ser transformada en salvado de avena y fibra para obtener y en una variedad de productos alimenticios (Decker et al 2014).

La avena se encuentra entre los cereales más comunes, estos incluyen además al maíz, el sorgo, la cebada, el centeno, el mijo y aproximadamente, tres quintas partes del consumo mundial de de estos cereales, se utiliza para piensos pero en los lugares donde la inseguridad alimentaria es alta estos cultivos siguen siendo muy importantes para el consumo humano directo: en el África, el 80% de la cosecha de grano se utiliza de esta manera. El consumo humano de avena está aumentando, se espera que la tendencia continúe a medida que la demanda de productos nutritivos y la industria alimentaria responda con la producción de nuevas variedades de productos derivados de la avena (Zhou et al. 1998; FAO 2015).

2.3.2 Propiedades nutricionales y funcionales de la avena

La avena es un alimento exclusivamente nutritivo comparado con otros cereales, la avena se caracteriza por un menor contenido de carbohidratos, mayor contenido de proteínas que van del 10-12% y mayor concentración de lípidos que todos los cereales comunes con un 10% (Zhou et al. 1998), es el cereal con mayor porcentaje de grasa vegetal: 65% de ácidos grasos insaturados y 35% de ácido linoléico (López et al. 2006). La testa y el endospermo además de su alto contenido de grasa contienen altos niveles de fibra dietética debido a que el 68-72% del grano consiste principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina. También contiene grandes cantidades de fibra soluble, sin embargo, un grano de avena es en gran parte no digerible y por lo tanto debe ser utilizado en forma molida para cosechar sus beneficios nutricionales (Decker et al. 2014).

La avena es más comúnmente procesada como un grano entero porque su grano es más suave que otros granos como el trigo, y por lo tanto no se pueden separar fácilmente en fracciones de germen, endospermo y salvado. El salvado de la avena tiene propiedades funcionales de temperatura de gelatinización más alta, mayor solubilidad, capacidad de hinchamiento, mayor viscosidad aparente, las cuales podrían contribuir a un tránsito intestinal más lento, mayor efecto de saciedad, además la alteración de β -glucanos

presentes en salvado de avena, pueden favorecer la disminución de colesterol (Decker et al. 2014).

La avena también posee una gran variedad de minerales, oligoelementos y vitaminas tales como: magnesio, hierro, zinc, cuya función es ayudar a reestructurar la membrana celular; el fósforo para la energía celular; sodio, potasio, calcio, cobre, selenio y vitaminas como B1, B2, B3, B6 y E, y trazas de vitamina D (López et al. 2006). Se han identificado compuestos antioxidantes como tocoferoles de vitamina E, flavonoides y ácidos fenólicos. Se ha demostrado el contenido de fenoles totales en la avena de 1 a 17.60µg de catequinas/mg y su actividad antioxidante (Zieliński y Kozłowska 2000).

2.4 Leguminosas

La denominación genérica de legumbre secas se aplica, según el Código Alimentario Español (CAE), a aquellas semillas secas, limpias, sanas y separadas de la vaina, procedentes de la familia de las leguminosas (*Fabaceae*), de uso corriente en el país y que directamente o indirectamente son adecuadas para la alimentación. Se incluyen las diferentes variedades de frijol como el pinto, bayo, negro y blanco. También están en este grupo la lenteja, el garbanzo, los guisantes y la soya (Rebello et al. 2014).

Las leguminosas se han considerado tradicionalmente excelente fuentes de proteína vegetal. Su valor nutritivo se atribuye fundamentalmente a su elevado contenido de proteínas, además de que pueden ser buenas fuentes de hidratos de carbono, lípidos y fibra, vitaminas del complejo B (Tabla 2 y 3) (Dávila et al. 2003; USDA 2012).

Tabla 2. Contenido de energía, macronutrientes y fibra de leguminosas comunes

Tipo de leguminosa	Energía (Kcal)	Carbohidratos (g)	Proteína (g)	Grasa (g)	Fibra (g)
Frijol pinto	245	44.84	15.41	1.11	15.40
Frijol del norte	209	37.33	14.74	0.80	12.40
Frijol blanca	255	47.41	14.98	1.13	19.10
Frijol negro	227	40.78	15.24	0.93	15.00
Guisante caupí	198	35.50	13.22	0.91	11.10
Frijol bayo	225	40.36	15.35	0.88	11.30
Garbanzo	269	44.97	14.53	4.25	12.50
Guisantes partidos	231	41.36	16.35	0.76	16.30
Lentejas	230	39.86	17.86	0.75	15.60
Lupino	198	16.40	25.85	4.85	4.60
Soya	298	17.08	28.62	15.43	10.30

*Los valores son por taza de semillas secas maduras, cocinadas (hervidas sin sal) (USDA, 2012)

Tabla 3. Contenido de vitaminas de leguminosas comunes

Tipo de leguminosa	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Niacina (mg)	Piridoxina (g)	Folato (μg)
Frijol pinto	0.330	0.106	0.544	0.392	294
Frijol del norte	0.280	0.104	1.205	0.207	181
Frijol blanca	0.431	0.120	1.181	0.251	255
Frijol negro	0.420	0.101	0.869	0.119	256
Guisante caupí	0.345	0.094	0.846	0.171	356

Frijol bayo	0.283	0.103	1.023	0.212	230
Garbanzo	0.190	0.103	0.863	0.228	282
Guisantes partidos	0.372	0.110	1.744	0.094	127
Lentejas	0.335	0.145	2.099	0.352	358
Lupino	0.222	0.088	0.822	0.015	98
Soya	0.267	0.490	0.686	0.402	93

*Los valores son por taza de semillas secas maduras, cocinadas (hervidas sin sal) (USDA, 2012)

Respecto a propiedades organolépticas, las leguminosas suelen presentar un sabor más o menos dulce, en el cual desempeñan un papel importante los procesos de maduración, recolección y cocción (Ulloa et al 2011). Estos procesos también determinan la textura de los granos, los cuales deben ser tiernos, no excesivamente duros, de tal modo que presenten un grado de dureza tal, que permanezcan enteros. En este sentido, el contenido de hidratos de carbono, desempeña un papel importante, ya que el comportamiento en la cocción depende de las características del almidón. Igualmente, los componentes de las paredes celulares, especialmente las pectinas, condicionan la elasticidad y, por lo tanto la resistencia de la piel a la rotura. El color dependerá dentro de la misma especie, de la variedad (Celis et al. 2008).

2.4.1 Frijol (*Phaseolous vulgaris*)

El frijol, en conjunto con el maíz, constituye la dieta básica del pueblo mexicano, en consecuencia son los productos de mayor importancia socioeconómica tanto por la superficie de la siembra como por la cantidad consumida per cápita.

Clasificación

Familia: leguminosae

Subfamilia: Papilionoidene

Tribu: Phaseolac

Subtribu: Phascolinae

Género: Phaseolus

Especie: *Phaseolus vulgaris*

En México, la variedad *Phaseolus vulgaris* es el segundo producto más importante en sector agroalimentario, no solo por ser una fuente de ingresos para miles de productores, sino también por ocupar un lugar muy importante dentro de la dieta de la población, principalmente la de los estratos sociales de menores ingresos (SIACON-SAGARPA, 2006).

En México se han generado más de 142 variedades de frijol, a través del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), algunas de las cuales son criollas cultivadas en diferentes regiones del país, mientras que alrededor de cincuenta son variedades de frijol común (*P. vulgaris*) clasificadas en base al color del grano como negras, claras y pintas (FIRA 2001). Por ejemplo, se conoce como frijol pinto nacional, al frijol delicias (café claro variegado de café oscuro), al lagunero 87 (beige moteado de café), al matamoros 64 (café claro con manchas variegadas café oscuro) o al pinamerpa o pinto nacional 73 (verde oscuro), cuyo contenido de proteína es de 26.8%, 23.3% y 26.5% y ND respectivamente. Otros ejemplos son el frijol bayo (puede ser 66, 107, 159, 160, 161, alteño, 166, 400, baranda, calera, Madero, Mecentral, Victoria, Zacatecas, Bayomez) y el canario (Canario 101, 107, 72-CIAS 72, 78-Ahome, Guanajuato 43) (Rosales et al. 2004). Existe una importante diferencia entre las preferencias por tipo de frijol: 77.2% prefiere frijol grano (45.2% de primera clase, 21.6% de segunda y 10.4% extraclase) y 22.8% industrializado. En el primer caso el 47.5% lo adquiere a granel y 29.7% lo compra empacado. Entre los que prefieren industrializado, 17.9% lo prefiere enlatado, 2.9% por empaque al vacío, 1.5% por empaque tetra-pack y 0.5% por el deshidratado. Debido a la cercanía de la región norte con el sur de los Estados Unidos, los centros de abasto y mercados han sido sustituidos por tiendas de autoservicio, situación que ha propiciado una demanda de frijol con valor agregado: 40.1% lo compra empacado, 36.3% industrializado y 23.6% a granel (Rodríguez et al. 2010).

Las variedades del frijol se pueden clasificar también por su consumo como grano seco y como grano y vaina verde; desde el punto de vista agronómico se utilizan características como la duración del periodo vegetativo y se habla de variedades precoces o tardías; en cuanto a la reacción al fotoperiodo se dice de variedades sensibles, insensibles o neutras y en lo que respecta a factores limitantes de la producción se ubica a las variedades en al menos las resistentes y susceptibles (Ulloa et al. 2011). En la Tabla 4 se muestran las estadísticas básicas de características de calidad evaluadas en 49 genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y uno de *P. coccineus*, variedad Blanco Tlaxcala.

Tabla 4. Características de calidad de frijol común

Características	<i>Phaseolus vulgaris</i>			D. E.	CV%	Blanco Tlaxcala
	Media	Mínimo	Máximo			
Peso 100g	58.3	16.0	34.8	10.8	31.0	88.4
Volumen 100ml	27.7	12.0	44.0	9.0	32.5	76.0
Capacidad de absorción de agua (%)	83.4	6.1	126.9	32.1	38.4	104.5
Testa (%)	8.2	5.5	11.4	0.9	11.1	8.7
Proteína (%)	23.5	20.4	29	2.0	8.7	18.4
Tiempo de cocción (min)	91.5	46.0	207.0	36.6	40.1	69.0
Sólidos en caldo (%)	0.41	0.16	0.76	0.1	26.8	0.36
Digestibilidad in vitro (%)	85.3	82.1	89.1	1.8	2.1	86.2
Actividad de inhibidor de tripsina (mg/g)	1.38	0.50	1.97	0.3	24.9	1.4

DE= Desviación estándar

CV%= Coeficiente de variación

Fuente: Pérez et al. 2002.

2.4.2 Propiedades nutricionales y funcionales del frijol

Phaseolus vulgaris, es una de las principales fuentes de proteína vegetal disponible en los países en desarrollo (Caballero et al. 2013). El alto contenido de lisina, lo hacen una fuente ideal de proteína al combinarse con los cereales, debido a que complementa la deficiencia de este aminoácido esencial en los mismos, también es un ingrediente básico en los países en desarrollo, en donde la disponibilidad de proteína animal es baja. Además, proporciona una nutrición adecuada debido a su contribución de carbohidratos (Sathe y Deshpande 2003) y proteína de alta calidad (Velasco et al. 2013).

Dependiendo del tipo de frijol, el contenido de proteínas varía del 14 al 33%, siendo rico en aminoácidos como la lisina (6.4 a 7.6 g/100 g de proteína) y la fenilalanina más tirosina (5.3 a 8.2 g/100 g de proteína), pero con deficiencias en los aminoácidos azufrados de metionina y cisteína. Sin embargo, de acuerdo a evaluaciones de tipo biológico, la calidad de la proteína del frijol cocido, puede llegar a ser de hasta el 70% comparada con una proteína testigo de origen animal a la que se le asigna el 100%. En relación a la aportación de carbohidratos, 100 g de frijol crudo aportan de 52 a 76 g dependiendo de la variedad, cuya fracción más importante la constituye el almidón. El almidón representa la principal fracción de energía en este tipo de alimentos, a pesar de que durante su cocinado, una parte del mismo, queda indisponible debido a que se transforma en el denominado almidón resistente a la digestión. Dentro de los macronutrientes del frijol, la fracción correspondiente a los lípidos es la más pequeña (1.5 a 6.2 g/100 g), constituida por una mezcla de acilglicéridos cuyos ácidos grasos predominantes son los mono y poliinsaturados (Ulloa et al. 2011).

El frijol también es buena fuente de fibra cuyo valor varía de 14-19 g/100 g del alimento crudo, del cual hasta la mitad puede ser de la forma soluble. Los principales componentes químicos de la fibra en el frijol son las pectinas, pentosanos, hemicelulosa, celulosa y lignina. Además, este alimento también es una fuente considerable de calcio, hierro, fósforo, magnesio y zinc y de vitaminas como la tiamina, niacina y ácido fólico. Entre las actividades biológicas observadas están la capacidad antioxidante, la reducción de

colesterol y la reducción de lipoproteínas de baja densidad, por lo que tiene efecto protector contra enfermedades cardiovasculares. *Phaseolus* ha mostrado efectos favorables contra el cáncer debido a las propiedades antimutagénicas y antiproliferativas de sus compuestos fenólicos, lectinas e inhibidores de la proteasa (Suárez et al. 2016; Beninger y Hosfield 2003).

2.4.3 Componentes antinutricionales del frijol

De las principales sustancias químicas que interfieren con el aprovechamiento de los nutrientes del frijol destacan los inhibidores de tripsina, los taninos, las lectinas y el ácido fítico (Luo y Xie 2012; Guzmán et al. 2002). Los taninos son considerados antinutrientes, porque pueden formar complejos con las proteínas, el almidón y enzimas digestivas, causando una reducción en el valor nutritivo de los alimentos, además de disminuir la digestibilidad de proteínas, limitan la biodisponibilidad de minerales como el hierro y zinc, mientras que el ácido fítico también afecta la asimilación del zinc. Por otra parte, las lectinas son proteínas que inducen el crecimiento del páncreas en ratas y producen ulceración y necrosis en el intestino (Melo y Ligarreto 2010).

Otra familia de componentes que se consideran indeseables en el frijol son ciertos oligosacáridos como la rafinosa, estaquiosa y verbascosa, los cuales no son hidrolizados en la primera etapa de la digestión y terminan fermentados en ácidos grados de cadena corta, produciendo gas en el colón, lo que provoca problemas de flatulencia. Afortunadamente, las técnicas culinarias de preparación el frijol para su consumo, como lo son el remojo y la cocción, eliminan o disminuyen la presencia de dichos factores antinutricionales (Mojica et al. 2014).

2.4.4 Digestibilidad de la proteína del frijol

Estudios de fraccionamiento de la proteína del *P. vulgaris* han generado tres fracciones de proteínas solubles: la faseolina o globulina G1, la globulina G2 y la albúmina, siendo la faseolina la más abundante proteína de reserva del frijol (36-46%). La utilización de las proteínas en animales y humanos es afectada adversamente por los taninos condensados, presentes en la cáscara de los frijoles, encontrándose en semillas secas entre 0-2%, variando según la especie y el color de la cáscara (Del Pino y Lajolo 2013). Este efecto adverso de los taninos se deriva de la habilidad de asociarse y precipitar proteínas mediante interacciones hidrofóbicas y por puentes de hidrógeno (Swanson y Artz 1988). La presencia de taninos condensados provenientes del frijol (*P. vulgaris*), afectan la digestibilidad *in vitro* de la faseolina en sus formas nativa y desnaturalizada, cuando ésta está unida al tanino en la proporción 5/20 tanino/proteína (p/p), el punto en el cual toda la proteína en solución es precipitada por los taninos, observándose una significativa inhibición en el grado de hidrólisis de esta proteína por los dos sistemas multienzimáticos estudiados de tripsina-quimiotripsina-peptidasa y pepsina-pancreatina, tanto en condiciones limitadas, como en condiciones de exceso de enzimas.

La presencia en los perfiles electroforéticos de péptidos de 45.7KDa y 24KDa, resistentes a la hidrólisis, hasta por prolongados períodos de incubación (21h), evidencian también la dificultad que presenta la faseolina en ser hidrolizada en presencia de los taninos (Del Pino y Lajolo 2003).

2.5 Método de fermentación

La fermentación es un proceso económico y sencillo que causa cambios químicos y modifica la funcionalidad de los alimentos. Es la acción de microorganismos y/o enzimas que genera los cambios en dicho proceso y como consecuencia mejora el valor nutricional, disminuye o elimina factores antinutricionales, aumenta la vida útil de las leguminosas, y modifica las propiedades sensoriales, lo cual a veces se traduce en una mejora de aceptabilidad por el consumidor. Los cambios ocurridos en las semillas fermentadas

dependerán de las condiciones de la fermentación (Dávila 2003). Los microorganismos utilizados son fundamentalmente hongos, en algunos casos pueden ser: levaduras y bacterias, dependiendo de la humedad del sustrato. Se desarrollaron inicialmente para mejorar la conservación de alimentos, para cambiar sus propiedades físicas, para eliminar factores antinutricionales y para mejorar digestibilidad. Tiene un uso tradicional en oriente para producción de alimentos como el tempeh, miso, koji. Debido a la baja disponibilidad de agua, en estas fermentaciones, no hay problemas de contaminación con bacterias, a pesar de que el sustrato no se esteriliza (Armienta et al. 2001).

2.5.1 Fermentaciones en estado sólido o semisólidas

La fermentación en estado sólido (SSF) se define como el cultivo de microorganismos en húmedos soportes sólidos, ya sea en vehículos inertes o en sustratos insolubles que pueden, además, ser usados como carbono y fuente de energía. La fermentación se lleva a cabo en ausencia o poca presencia de agua libre. Su objetivo es llevar a los hongos cultivados o bacterias en estrecho contacto con el sustrato insoluble y por lo tanto conseguir las concentraciones más altas de sustrato para fermentación. La SSF tiene ventajas biotecnológicas sobre la tecnología de fermentación sumergida (SMF) (Tabla 5) (Hölker et al. 2004).

Tabla 5. Ventajas de la fermentación en estado sólido

Ventajas	Consecuencias	Problemas a resolver
Ventajas biológicas		
Baja demanda de agua	Desperdiciar menos agua	Edificio de gradientes de humedad
La alta concentración del producto final	Baje costos indirectos	
Represión catabólica significativamente más baja o ausente	La fermentación en presencia de glucosa	
Utilización de sustrato sólido	La alta concentración de los sustratos de crecimiento	Edificio de los gradientes de sustrato
		Edificio de gradientes de Ph

Menores exigencias de esterilidad	Cultivos mixtos de microorganismos fermentativos
Apoyo sólido para los microorganismos	Mejor rendimiento de los microorganismos cultivados
Simulación del entorno natural	
La fermentación de sustratos insolubles en agua, sólidas	
Cultivo mixto de microorganismos	Sinergia de rendimiento metabólico
Ventajas de procesamiento	
Alto volumen de productividad	Baja demanda de energía para calefacción
Los volúmenes más pequeños fermentadores	Construcción de gradientes de temperature
Fácil aireación	Construcción de gradientes de oxígeno en gran escala
Utilización de otro modo inutilizables fuentes de carbon	Baratos y abundantes fuentes de carbono
No hay productos químicos anti-espuma	Que no se pierdan microorganismos durante la fermentación

Los fitatos son unos de los factores antinutricionales del frijol, cuyo contenido disminuye durante la fermentación, y es dependiente de las condiciones de la fermentación. El contenido y la digestibilidad de proteínas de leguminosas también se afecta por la acción proteolítica de las enzimas proveniente de la semilla y de los microorganismos. Como resultado de la acción de las proteasas, las proteínas son hidrolizadas a péptidos y aminoácidos libres, aumentando así su digestibilidad. Este aumento en la digestibilidad de las proteínas, puede estar también relacionado con la disminución en el contenido de taninos, de fitatos y de los inhibidores de tripsina que se han observado como efecto de la fermentación (Dávila 2003).

2.6 Hongos comestibles

Los hongos comestibles se consideran como una fuente de alimentos con valor incalculable, por su calidad nutricia y porque pueden crecer en una gran variedad de substratos; los más comunes incluyen pajas (trigo, avena y arroz), serrín, desechos de algodón, henos, hojas de plátano, rastrojo de maíz y otros desechos agrícolas (Sharma et al. 2015).

2.6.1 *Pleurotus ostreatus*

El *Pleurotus ostreatus*, pertenece a la clase Basidimicetos, orden Agaricales (agaricáceos); familia *Tricholomataceae* (Tricoloma) (Buah et al. 2010), es el segundo hongo comestible más cultivado en todo el mundo después de *Agaricus bisporus* (Sánchez 2010). Las setas *Pleurotus* fueron descritas como: “Hongos con sombrero liso, a veces algo escamoso hacia el centro o la base; de 5 a 10cm de ancho o hasta 15 cm, grisáceo o café grisáceo con tonos o reflejos metálicos. Sus láminas son rosa o amarillento seco, poco o nada unidas entre sí en la base, más o menos delgadas y con bordes lisos, no tienen pie o este es muy corto o mal definido. Tiene carne blanca, carnosa-correosa con olor y sabor agradables. Crecen en grandes conjunto sobre troncos tirados o árboles en zonas tropicales, subtropicales o bosques de pino y encino; en jardines, a veces sobre chopos, sauces o fresnos (Bautista 1997).

El cultivo de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) ha aumentado en todo el mundo debido a sus habilidades para crecer en una amplia gama de temperatura y la utilización de varios residuos a base de agro. Las especies de *Pleurotus* son degradadores de lignina eficientes, que puede crecer en diferentes residuos agrícolas con amplia adaptabilidad a condiciones agroclimáticas variadas (Sharma et al. 2015). El cultivo de hongos ostra convierte un alto porcentaje del sustrato lignocelulósico a cuerpos fructíferos que aumentan el rendimiento. *Pleurotus ostreatus* exige pocas condiciones ambientales controladas, y sus cuerpos

fructíferos son menos atacados con enfermedades y plagas, y pueden cultivarse en forma simple y económica (Kües y Liu 2000). Las especies de *Pleurotus ostreatus* requiere menos nitrógeno y más fuente de carbono. Por lo tanto, la mayoría de materias orgánicas que contienen celulosa, hemicelulosa y lignina, se puede utilizar como sustrato de este hongo como el arroz y paja de trigo, cáscaras de semilla de algodón, mazorca de maíz, caña de azúcar, baggase, serrín, papel usado, hojas, etc. Sin embargo, la cantidad demandada de cada fuente nutricional difiere según la especie de hongo y el sustrato usado (Sharma et al. 2015).

2.6.2 Propiedades nutricias de *Pleurotus ostreatus*

Humedad

El contenido promedio de humedad está entre 85 y 95% dependiendo este valor si las muestras se analizan inmediatamente después de la cosecha o pasa algún tiempo de almacenamiento. Este valor de humedad es afectado también por los factores ambientales como temperatura y humedad relativa durante el crecimiento y almacenamiento, así como la cantidad de agua metabólica que puede ser producida o utilizada durante el almacenamiento (Bautista 1998; Wang et al. 2001).

Hidratos de carbono y fibra

El contenido de hidratos de carbono según Bautista (1997) es de 50.67 a 54.01%, las distintas especies de *Pleurotus* contienen entre 46.6 y 81.8% de los cuales 4.2% son carbohidratos solubles, 1.7% de pentosas y 32.3% de hexosanas en peso seco (Bonatti et al. 2004).

El contenido de fibra cruda se encuentra entre 7.5 y 11.9% (Wang et al. 2001; Bautista, 1998). En cuanto a fibra dietética que considera la mayor parte de los polisacáridos como celulosa, hemicelulosa, pectinas, otros heteropolisacáridos y la lignina (Li et al. 2001) y *P. ostreatus* contiene un 47.5%, de los cuales 11.6% y 27.8% son de celulosa y hemicelulosa respectivamente. Dentro de los principales componentes encontrados en la fibra del

Pleurotus, están las hemicelulosas y las pectinas, por lo que se podría pensar que éstas contribuyen a disminuir las enfermedades coronarias (Bautista et al. 1998).

Proteína y aminoácidos

El contenido de proteína se encuentra entre 8.8 y 38.7 g/100g en peso seco para distintas especies de *Pleurotus*, valores que dan un intervalo de 12.69-43.37% (N x 6.25) (Bautista et al 1998). Wang et al. 2001 y Gómez y Cuervo 2016, reportan contenidos de proteína de 23.9 hasta 34% para *Pleurotus ostreatus*.

Existen estudios que indican que hay especies de *Pleurotus* que son capaces de sintetizar una mayor proporción de aminoácidos esenciales y que cuando el balance total de aminoácidos (total de aminoácidos en los cuerpos fructíferos más los que contienen el sustrato agotado), resulta positivo, el sabor es mejor y recuerda al de la carne; además los cuerpos fructíferos de las cepas con balance positivo de N tienen una estructura más consistente y más sólida (Bautista et al. 1998). Fujihara et al 1995, encontró para *Pleurotus ostreatus* cultivado 32.95% y así mismo Wang et al. 1990, reporta un intervalo de 13.64 a 20.44% para distintas muestras de *Pleurotus ostreatus*. Se han reportado también valores de lisina entre 4.5 y 11.1g de aminoácido por 100g de proteína cruda corregida (N x 4.38). Así mismo el contenido de metionina se reportó entre 1.5 y 3.8g por 100g de proteína cruda corregida (Wang et al. 2001; Bano y Rajarathnam, 1988). También se ha comparado el contenido de aminoácido en setas *Pleurotus ostreatus* con el patrón FAO, 1985 observándose similitud en la mayoría (Tabla 6).

Tabla 6. Composición de aminoácidos de *Pleurotus ostreatus*

Aminoácidos mg/ de proteína (N x 6.25)	INIREB-8 Media \pm D.E.	CBB-H-896 Media \pm D.E.	CDBB-H-897 Media \pm D.E.	Patrón FAO 1985
Aspártico	84.20 \pm 5.51	79.12 \pm 0.25	88.80 \pm 1.55	
Serina	33.85 \pm 0.21	36.50 \pm 0.55	33.20 \pm 0.56	
Glutámico	147.65 \pm 3.46	131.23 \pm 4.99	164.75 \pm 10.6	
Glicina	33.15 \pm 0.77	31.00 \pm 0.70	30.55 \pm 0.49	

Histidina	19.95 ± 0.49	18.75 ± 0.70	18.60 ± 0.28	19
Arginina	49.40 ± 0.84	60.25 ± 0.49	47-65 ± 0.49	
Treonina	35.80 ± 0.84	36.25 ± 0.77	36.10 ± 0.28	34
Alanina	44.80 ± 0.42	43.45 ± 1.34	44.90 ± 0.14	
Prolina	30.55 ± 0.63	31.18 ± 0.01	30.65 ± 0.21	
Tirosina	25.10 ± 0.00	25.25 ± 0.07	24-30 ± 0.00	63*
Valina	35.85 ± 0.49	34.60 ± 0.14	33.00 ± 0.14	35
Metionina	14.80 ± 0.28	13.50 ± 0.0	13.55 ± 0.07	25**
Cistina	11.30 ± 0.50	12.50 ± 0.50	10.80 ± 0.50	
Lisina	50.40 ± 0.84	51.00 ± 0.14	48.40 ± 1.13	58
Isoleucina	30.25 ± 0.35	28.65 ± 0.21	26.90 ± 0.42	28
Leucina	50.00 ± 0.56	49.10 ± 0.28	42.85 ± 3.46	66
Fenilalanina	35.70 ± 0.56	28.35 ± 0.35	25.50 ± 0.98	
Triptófano	13.70 ± 0.50	12.80 ± 0.50	16.30 ± 0.50	11
Total	746.45	722.48	736.80	
Total esenciales	322.85	311.00	296.30	339

*Total de aromáticos tirosina y fenilalanina

** Total de azufrados cistina y metionina

Fuente: (Bautista 1998)

Lípidos

Generalmente los hongos se caracterizan por su bajo contenido de lípidos, un valor promedio más apropiado es de 2-8% (Wang et al. 2001; Bonatti et al 2004). Según Bautista 1997, de los ácidos grasos el mayor constituyente es el ác. linoléico (C18:2) con un contenido de 63.60 a 68.45% del total de los lípidos, coincidiendo con el 65% reportado por (Bautista 1997).

Minerales y vitaminas

Para distintas especies de *Pleurotus* la concentración de cenizas se encuentra en un intervalo de 6.1 a 10.7%. En general se considera que los hongos incluyen cantidades significativas de fosforo, sodio y potasio y bajas concentraciones de calcio. Se considera

que las especies de *Pleurotus* contienen todas las vitaminas en altas concentraciones, excepto el ácido ascórbico, si se comparan con otros vegetales, siendo particularmente ricos en riboflavina y ácido fólico (Wang et al. 2001).

2.6.3 Calidad de la proteína de *P. ostreatus*

Se evaluó la calidad proteínica de los cuerpos fructíferos de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*, cultivadas en invernadero, temperatura registrada de: 22-28°C y 75-85% de humedad relativa, en paja de trigo como sustrato. La concentración de proteína (Nx4.38), osciló entre 17.26 y 19.97 g/100g en peso seco. Sus puntajes químicos estuvieron entre 74 a 93% siendo la lisina disponible y la leucina, los primeros aminoácidos limitantes. Los valores de digestibilidad *in vitro* fueron de: 67.75-68.38%. El valor proteínico relativo varió de 100.06 a 107.85%, siendo menor que el del frijol soya cocido y huevo entero; e iguales estadísticamente a los de la leche descremada en polvo, caseína más metionina y albúmina; y superiores a los del arroz, maíz, frijol, lenteja, haba y pasta para sopa. En función de lo anterior se puede concluir que por su contenido de aminoácidos esenciales, las proteínas de éstas se complementan adecuadamente con la de los cereales, por lo cual es altamente recomendable incluirlas en la dieta diaria (Bautista et al. 1998)

La digestibilidad *in vitro* para *Pleurotus*, es de 67.75 a 68.38%, siendo estos valores menores a los de digestibilidad *in vivo*, se recomienda usar el factor 4.38 para evaluar calidad proteica en hongos ya que el factor 6.25 los deja en desventaja con otros alimentos (Bautista et al. 1998).

Suplementación de cereales y leguminosas con harina de setas

El efecto de suplementación de la harina de setas sobre el contenido de proteínas en los cereales aún en mezclas de 90:10 (cereal: setas) es significativo, debido a que el contenido de proteína de los cereales es menor al de la harina de las setas. Por otra parte en las leguminosas resulta significativo el efecto de las proteínas en mezclas de 50:50, con

excepción de la lenteja. Respecto a la digestibilidad, esta es menor en harinas suplementadas, debido a que los valores de digestibilidad in vitro son inferiores en las setas (Bautista et. al 1998).

2.6.4 Propiedades antioxidantes de *P. Ostreatus*

Además de su alto valor nutricional y calidad proteica, el *Pleurotus ostreatus* tiene propiedades antioxidantes (Taofi et al. 2016), se ha reportado un contenido fenólico total de 5,49 g / 100 g en el hongo, contenido de β -caroteno de 3.10 mg / 100 g, así como presencia flavonoides (rutina y crisina) que le dan al *Pleurotus ostreatus* esta capacidad (Jayakumar et al. 2009).

2.7. Estudios previos de cereales y leguminosas fermentados

Existen productos fermentados de varios cereales y leguminosas, con hongos pertenecientes al género *Rhizopus*, llamados Tempeh. Éste se originó en el centro y este de Java (Indonesia) a principios del siglo XVIII y ahora es la comida de proteína de soya más popular de Indonesia (Astuti et al. 2000). En general, el tempeh fresco de buena calidad se define como una masa compacta y divisible de partículas cocidas de la materia prima, que se mantiene unida y cubierta por el denso micelio no esporulador de *Rhizopus* spp. (Nout y Rombouts 1990). Tiene atractivo sabor y textura y el tiempo de cocción reducido en comparación con las materias primas utilizadas (Shurtleff y Aoyagi 2001). La soya es la mejor leguminosa para elaborar este producto, pero también puede mezclarse con otras leguminosas o granos de cereales, así como residuos de los mismos, pueden utilizarse como un sustrato que proporcione soporte para crecimiento de *Rhizopus* spp. en un proceso de fermentación y así obtener un producto apto para el consumo humano.

Recientemente, también se ha producido harina de tempeh por secado y molienda del tempeh (Cuevas et al. 2004) con características nutricionales mejoradas (Reyes et al. 2004). Estas características de producción del tempeh han sido ampliamente revisadas por muchos autores (Nout y Rombouts 1990; Hachmeister y Fung 1993; Astuti et al. 2000; Nout y Kiers 2005).

Las características más importantes de la fermentación del tempeh, es la utilización del microorganismo clave y la obtención de los productos finales, que son pasta de tejido micelial compacto (Nout y Kiers 2005). Presenta también características nutricionales superiores, una textura más firme y fuerte sabor, por lo que se emplea internacionalmente en las dietas vegetarianas como un sucedáneo de la carne. Fabara 2011, determinó en su estudio que respecto al contenido de proteína en el tempeh con frijol y quinoa, los mayores porcentajes se logran con mezclas de 80% frijol + 20% quinoa al 3% y 1% de *Rhizopus oligosporus* con 27,41% y 27,20%. Los más altos porcentajes de fibra se obtienen con mezclas de 80% frijol + 20% quinoa a 1 3% y 1% de *Rhizopus oligosporus* respectivamente con valores de 6,85% y 6,35% y en lo que respecta a aminoácidos la mezcla 40% frijol + 60% quinoa con 1% y 3% de *Rhizopus oligosporus* muestra los mejores resultados en valor nutricional al tener una adecuada combinación de aminoácidos esenciales. Muestra también con estas mezclas aumentos significativos por aminoácidos (ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina y fenilalanina, histidina, lisina, arginina, triptófano).

La proteína obtenida en el tempeh, le confiere mayor digestibilidad a este producto debido a que los oligosacáridos, que se asocian frecuentemente con los gases y la indigestión, se ven disminuidos. Razón por lo cual en diferentes países del mundo se viene elaborando el tempeh con diferentes sustratos disponibles, de acuerdo a las costumbres alimenticias de cada región (Fabara 2011).

En China también se ha elaborado productos como tempeh, tales como el Koji de soja (Shurtleff y Aoyagi 2001) (Douchi Li-Te et al. 2004). También existe el Douchi que está

hecho de frijoles negros o amarillos fermentados por *Mucor* spp., *Aspergillus* spp. o *Rhizopus oligosporus*. Douchi (producto chino), natto (producto japonés, fréjol de soja fermentadas con *Bacillus subtilis*) y tempeh (producto de Indonesia, frijol de soja fermentadas con *R. oligosporus*) podrían tener el mismo origen (Astuti et al. 2000; Li-Te et al., 2003). En varios lugares de China las personas todavía hacen un producto como tempeh, llamado 'Mei Dou Za', de los residuos de tofu por fermentación espontánea durante tres días, obteniéndose un pastel con micelio blanco, similar al okara tempeh (un residuo insoluble de la fabricación de tofu o leche de soja) (O' Toole 1999).

3. JUSTIFICACIÓN

El aumento de las enfermedades degenerativas a nivel mundial, que solo en México representan 37.8% de las muertes (INEGI 2010); el incremento en el consumo de alimentos procesados, el cual registró un valor de 4,643 miles de millones de dólares a nivel mundial, y se espera crezca a una tasa media de crecimiento anual, del 7.5% en el periodo 2012-2020, junto con los alimentos funcionales que alcanzaron ventas de 150,000 millones de pesos mexicanos en 2013 (UIN 2012); una mayor consciencia en algunos sectores de la población sobre el autocuidado nutricional y el envejecimiento de la población, han provocado que en los últimos años la industria de los ingredientes y alimentos funcionales sea un sector de alto crecimiento, elaborando alimentos que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano.

Las leguminosas se han considerado tradicionalmente excelentes fuentes de proteína vegetal, siendo *Phaseolus vulgaris* el segundo producto más importante en el sector agroalimentario, ya que ocupa un lugar muy importante dentro de la dieta de la población, principalmente la de los estratos sociales de menores ingresos (SIACON-SAGARPA 2006).

Los cereales proporcionan, la mayoría de los alimentos calóricos del mundo y aproximadamente la mitad de sus proteínas. Entre ellos está la avena, de la cual se produce en promedio 130 mil toneladas, teniendo el lugar 27 en el mundo respecto a su producción. La producción per cápita promedio es de 1.2 kilogramos (SAGARPA-SIACON 2013).

El presente trabajo permitirá utilizar cereales y leguminosas de uso común aplicar biotecnología y tecnología de alimentos para obtener una materia prima de alto valor nutricional para su potencial inclusión en productos para nutrición humana.

4. HIPÓTESIS

Los productos de la fermentación con cereales y leguminosas con *Pleurotus ostreatus* son más ricos en proteína de buena calidad biológica y alto valor nutritivo que los granos nativos y pueden ser utilizados como ingrediente funcional.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Elaborar una harina rica en proteínas de buena calidad biológica y de alto valor nutricional utilizando frijol, cereales fermentados con *Pleurotus ostreatus* para su utilización como ingrediente funcional en la elaboración, fortificación y/o enriquecimiento de productos para nutrición humana.

5.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar fisicoquímica y nutricionalmente las variedades de frijol, avena y arroz para su selección.
2. Obtener los productos de la fermentación con *Pleurotus ostreatus* sobre frijol, avena y arroz y evaluar el efecto de *Pleurotus ostreatus* sobre la calidad fisicoquímica y nutricional de los cereales y el frijol.
3. Formular harinas mezclando cereales y leguminosas con y sin fermentación con mayor aporte proteico y una mayor puntuación aminoacídica.
4. Utilizar la harina obtenida como ingrediente en la elaboración de al menos un producto alimenticio de consumo tradicional y evaluarlo nutricionalmente y sensorialmente.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Estrategia Experimental

Para comprobar las hipótesis planteadas, se diseñó una estrategia experimental dividida en 3 etapas:

Etapa 1. Selección de cereales y leguminosas y estandarización del método de esterilización.

Etapa 2. Aplicación del método de fermentación, evaluación nutricional y funcional de las harinas obtenidas.

Etapa 3. Selección de formulaciones, su aplicación y evaluación en un alimento.

La estrategia experimental y sus diferentes etapas son detalladas en las figuras 1, 2 y 3.

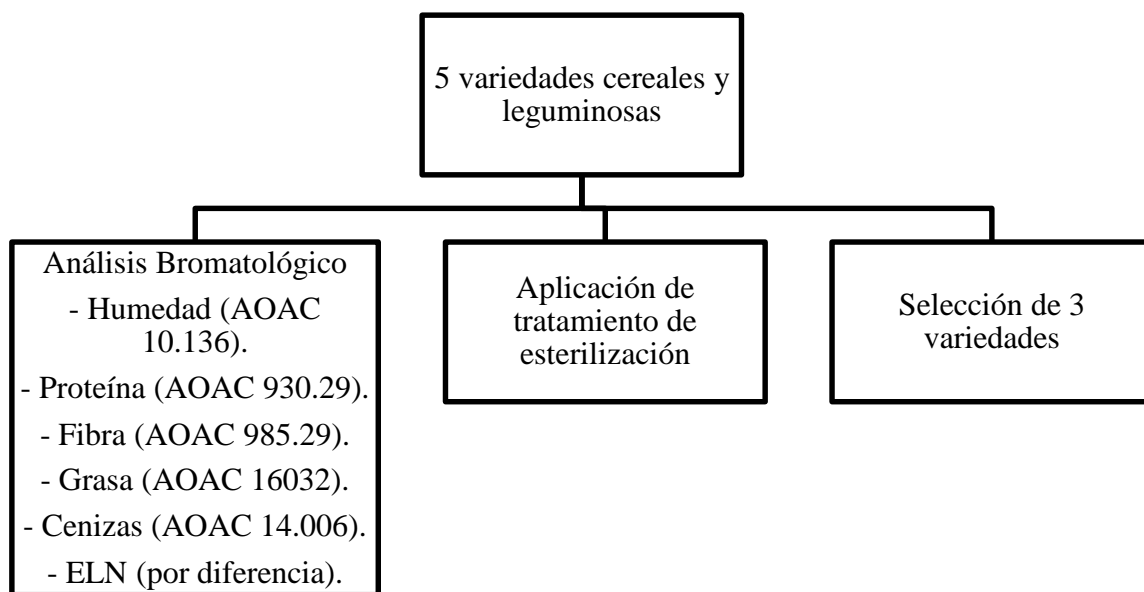


Figura 1. Selección de cereales y leguminosas.

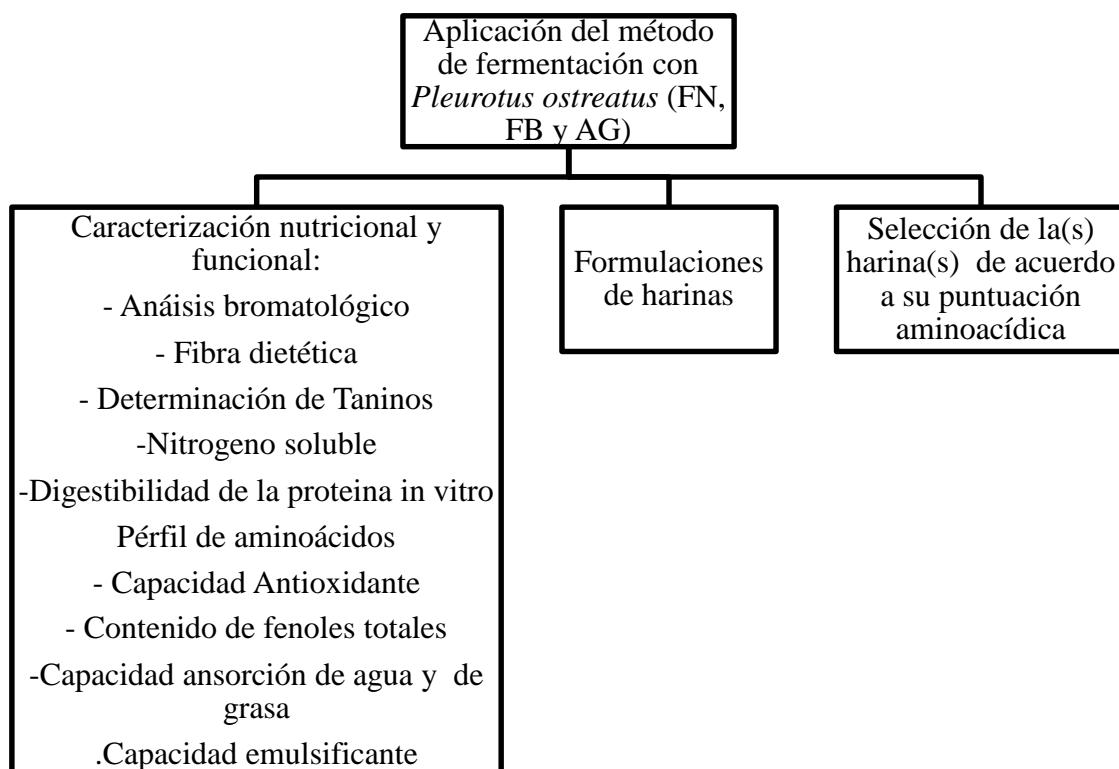


Figura 2. Aplicación del método de fermentación, evaluación nutricional y funcional de las harinas obtenida.

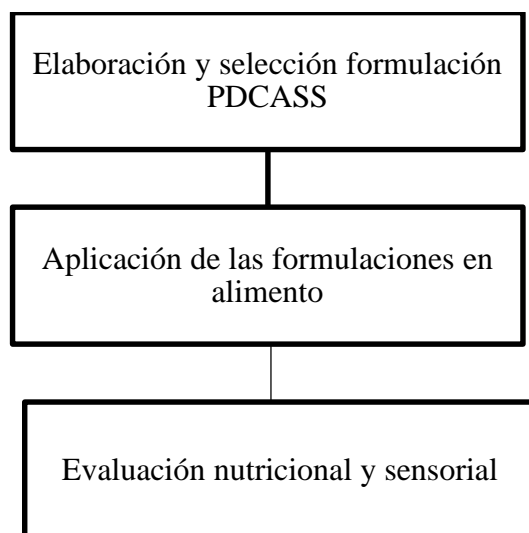


Figura 3. Selección de formulaciones y su aplicación en un alimento.

6.2 Semillas, microorganismo y mantenimiento

Se obtuvieron semillas de frijol negro (FN), frijol bayo (FB) y avena en grano (AVG) en la central de abastos de Guadalupe N.L., México. La cepa *Pleurotus ostreatus* se obtuvo del "Laboratorio de Enzimología de la Universidad Autónoma de Nuevo León" bajo el código CS155. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente por periodos (2-3 meses) y se transfirieron para su activación a placas de petri con medio YMGA (0,4% de extracto de levadura, 0,1% de extracto de malta, 0,4% de glucosa (dextrosa), 1,5% de agar) (Hernández et al. 2008).

6.3 Producción de inóculo

Los granos fueron lavados con agua y esterilizados en vasos de conserva mason jar en autoclave a 121°C por 45 min en una proporción de agua 1:1, 1:1.10 y 1:1.35 (p:v) de frijol negro, frijol bayo y avena, respectivamente, después de realizar pruebas en adición de agua y gramos de grano para estandarizar el proceso de esterilización, como se muestra en las tablas 7, 8 y 9. La cepa de *Pleurotus ostreatus* fue inoculada en medio YMG (0.4%

de extracto de levadura, 0.1% de extracto de malta y 0.4% de glucosa) e incubada en agitación (150rpm) por dos semanas en agitación a temperatura ambiente. El medio se homogeneizó durante cuatro periodos de 15 segundos. Se añadieron 8 mL del homogenizado a cada frasco con los granos esterilizados y se incubaron a temperatura ambiente durante 2 semanas. Los granos con y sin micelio se molieron (Molínex) y se deshidrataron en horno a 70° hasta alcanzar una humedad menor al 6%. Las harinas obtenidas con granos fermentados y sin fermentar fueron etiquetadas como frijol negro (FN); frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); Frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FNP); avena en grano (AVG) y avena en grano con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). La metodología utilizada se basó en lo reportado por Hernández et al. 2008.

Tabla 7. Prueba 1 para la estandarización del método de esterilización

Sustrato	Gramos	Agua
FB	204.25	80ml
FB	163.4	80ml
FN	208.8	80ml
FN	167.04	80ml
AVG	190.5	80ml
AVG	160.5	80ml

Frijol negro (FN), frijol bayo (FB) y avena (AVG).

Tabla 8. Prueba 2 para la estandarización del método de esterilización

Sustrato	Gramos	Agua
FB	204.25	160ml
FB	163.4	160ml
FN	208.8	160ml
FN	167.04	160ml
AVG	127.5	160ml
AVG	109.5	160ml

Frijol negro (FN), frijol bayo (FB) y avena (AVG).

Tabla 9. Prueba 3 para la estandarización del método de esterilización

Sustrato	Gramos	Agua
FB	155	160ml
FB	155	120ml
FN	150	160ml
FN	150	120ml
AVG	150	160ml
AVG	150	120ml

Frijol negro (FN), frijol bayo (FB) y avena (AVG).

6.4 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal se realizó usando los métodos oficiales de la Association of Analytical Communities (AOAC 2006). El contenido de proteína fue determinado con el digestor de proteína Kjeldahl marca LABCONCO, método 930.29. El contenido de grasa con el equipo de “GOLDFISH” marca LABCONCO (modelo 35001) con el método 920.36C. La determinación de cenizas se realizó con una mufla marca THERMOLYNE (modelo F- A1730) con el método 14.006 y la fibra dietética y carbohidratos disponibles fueron realizados con los métodos 985.29 y 962.09, respectivamente.

6.5 Nitrógeno Soluble

Para la determinación de nitrógeno soluble se colocaron 0.15g de muestra en un tubo de 50ml, al cual se le añadieron 49.5ml de NaOH a 0.02N, se agitó durante 1h y se centrifugó 5 min a 3000rpm. Se determinó el contenido de nitrógeno en la muestra tratada con un equipo de microkjeldahl marca LABCONCO (modelo 65000) (Blanco 1983).

6.6 Contenido de taninos

Para la determinación se siguió el Método 952.03 de la AOAC. La curva estándar fue preparada con alícuotas de 100, 200, 400, 600 y 800 en 1000 μ L del estándar de ácido tánico. Se disolvieron 10mg de cada muestra en agua destilada de la cual se tomó un 1mL. Se añadieron 7.5 mL de agua, 500 mL de Folin Deniss y 1 mL de Na_2CO_3 al 35%, se llevó a 10 mL y se disolvió. La mezcla de reacción se incubó por 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido tánico. Método 952.03 (AOAC 2006).

6.7 Hidrólisis de la proteína

Se colocaron 450 mg de muestra en tubos de centrifuga a los cuales se les agregó 30ml de HCl (0.01N) a un pH 2, se agregó al tubo 2.64mg de pepsina a una relación enzima/proteína de 1:37 (w/w) y se agitó en baño de agua a 37°C a 28rpm por 1h. Posteriormente se agregaron 8.625 mg de pancreatina en una relación 1:17 (w/w) a un pH 8, se agitó en baño de agua a 37°C a 28rpm por 2 h. Se inactivó la enzima colocando el tubo en baño de agua a 80°C por 3 min. Se precipitó la proteína hidrolizada con TCA, se centrifugó a 3000 rpm y se midió la absorbancia a 280 nm en tiempos de 0, 30, y 60 min para pepsina y 0, 30, 60, 90 y 120 min para pancreatina (Simonato et al. 2001).

6.8 Perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos fue determinado por el método 982.30 E (a,b,c) usando HPLC, Cromatografía gas-líquido (GLC) y espectrometría de masas (MS) de acuerdo al método 982.30 (AOAC 2006).

6.9 Digestión in vitro simulada

Se usó el protocolo basado en enzimas digestivas propuesto por (Lamothe et al. 2012) y fluidos simulados de acuerdo a la metodología propuesta por Minekus et al. (2014). Se colocaron 5 g de cada muestra en un tubo de 50mL, por triplicado. Para la fase oral, se añadieron 5mL de FOS (fluido oral simulado), se incubó por 5 min a 37 ° C en agitación. Después se añadieron 12 mL de FGS (fluido gástrico simulado) con pepsina a pH 2.3 y se incubaron por 2h a 37 °C en agitación orbital a 55 rpm para la fase gástrica. Por último se añadieron 20 mL FIS (fluido intestinal simulado) con 1.98 mg de pancreatina y extracto de bilis a pH 8 y se incubó por 2 h a 37 °C en agitación orbital para la fase intestinal. Se hicieron tres lavados a las muestras, los cuales consistieron en agregar agua y centrifugar a 3500 rpm durante 10 min y por último se decantó. Las muestras se deshidrataron en estufa NAPCO (modelo 630) a 60 °C durante toda la noche, para posteriormente hacer la determinación de digestibilidad de la proteína, actividad antioxidante y fenoles totales (Lamothe et al. 2012).

6.9.1 Digestibilidad de la proteína in vitro

En 37 mL de producto de la fase intestinal de la digestión simulada, se precipitó la proteína no digerida con TCA con una concentración final de 12% (w/w). Se centrifugó a 3500rpm con centrifuga SOLBAT (modelo C-40), durante 15 minutos y se decantó. La muestra se lavó y se centrifugó dos veces (Lamothe et al. 2012). El contenido de nitrógeno de la muestra fue determinado por el método de Kjendalh bajo las condiciones descritas en el apartado 4.4.

6.10 Actividad antioxidante

Se midió antes y después de la digestión. Se realizaron extracciones con metanol al 80% 1:5 (p:v) para la determinación de las muestras no digeridas. Para las muestras digeridas

las extracciones se realizaron con metanol al 80% 1:20 (p:v) a partir de 4 mL de muestra digerida después de la fase gástrica y 8 mL de digestión intestinal equivalente a 1g de muestra. Se mezcló 0.1 mL de extracto con 3.9 mL de DPPH (1 N). Se incubaron por 30 min en oscuridad. La absorbancia se midió en espectrofotómetro a 515 nm. Se utilizó una curva de calibración de Trolox con concentraciones de 50 a 300 μ mol. Los resultados se expresan en equivalente Trolox mmol / g (Aruguman y Perumal 2012).

6.11 Contenido de fenoles totales

Las extracciones se realizaron con metanol al 80% 1: 5 (p:v) para la determinación de muestras no digeridas y para la determinación de muestras digeridas, las extracciones se realizaron con metanol al 80% 1:20 (p:v) a partir de 4 mL de muestra digerida después de fase gástrica y 8 mL de digestión intestinal equivalente a 1 g de muestra. Se mezcló un 1 mL de extracto con 0.025 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1N), 2.5 mL de carbonato de sodio (20%). Se incubaron 40 min en oscuridad. La absorbancia se midió a 725 nm. Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico de 8 a 24 mg/L. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico (Aruguman y Perumal 2012).

6.12 Capacidad de absorción de agua

Se colocaron 2 g de muestra en un tubo de 50mL, se añadieron 20 mL de agua, se ajustó el pH a 7 y se agitó en vortex a temperatura ambiente durante 30 min. Después se centrifugó 3000 rpm durante 30 minutos para medir la absorción de agua. Los resultados se expresan en gramos de agua retenida por gramo de muestra (Granito et al. 2004).

6.13 Capacidad de absorción de aceite

A 2g de muestra se le añadieron 20ml de aceite de maíz en tubos de centrífuga de 50 ml, se agitó en vortex a temperatura ambiente durante 1 min, después se centrifugó durante

30 minutos 3000 rpm. Los resultados se expresan en gramos de aceite retenido por gramo de muestra (Granito et al, 2004).

6.14 Capacidad emulsificante

Esta capacidad se midió mezclando 1 g de muestra con 20 mL de agua destilada. Se agitó durante 15 minutos en vórtex, se ajustó el pH a 7 y se llevó a un volumen de 25 mL con agua destilada. Se mezclaron los 25 mL de esta solución y 25 mL con aceite de maíz en el mezclador Oster (modelo 6832), durante 3 min. Se centrifugaron por 5 min a 1300 rpm. Los resultados se expresan en términos porcentuales, como la altura de la capa emulsionada con relación al líquido total (Granito et al. 2004).

6.15 Cálculo de formulaciones

A partir del perfil de aminoácidos de las harinas, se determinó el valor aminoacídico (PDCASS) para comparar la calidad proteica y valorar diferentes formulaciones, escogiendo las de mayor valor aminoacídico (FAO/WHO/UNU 2007).

6.16 Elaboración del producto

Se eligieron las 3 combinaciones de frijol y avena con y sin fermentación (formulaciones) con los más altos valores aminocídicos para probar su inclusión en la elaboración de una tostada. El producto (tostada) se elaboró utilizando diferentes porciones de la formulación y harina de maíz, (40,50 y 60%) como se muestra en la tabla 10. Se agregaron 240 g de la formulación con 240 mL de agua, se amasó la harina y se formaron las bolitas de masa para posteriormente moldearlas con el tortillero, se colocaron en charolas para ser horneadas a una temperatura de 150°C por 40 min.

Tabla 10. Formulaciones usadas en la elaboración de una tostada

Formulación	Tostada	Código
1. FNP/AVG 50/50	60% formulación 40% harina de maíz	708L
2. FNP/AVG 50/50	50% formulación 50% harina de maíz	598D
3. FNP/AVG 50/50	40% formulación 60% harina de maíz	482F
4. FBP/AVG 50/50	60% formulación 40% harina de maíz	992E
5. FBP/AVG 50/50	50% formulación 50% harina de maíz	344Y
6. FBP/AVG 50/50	40% formulación 60% harina de maíz	673Z
7. FN/AVGP 50/50	60% formulación 40% harina de maíz	167T
8. FN/AVGP 50/50	50% formulación 50% harina de maíz	432R
9. FN/AVGP 50/50	40% formulación 60% harina de maíz	536S

6.17 Evaluación sensorial del producto

Se realizó una evaluación sensorial preliminar y una definitiva, aplicando una prueba hedónica para medir nivel de agrado en cuatro atributos: aspecto, olor, sabor y textura, con jueces no entrenados (60 consumidores), de entre 16 y 20 años a los cuales se les pidió evaluar las muestras codificadas de las tostadas elaboradas con las diferentes formulaciones, indicando cuanto les agrada cada muestra, en una escala de 10 puntos (Anexo 1). En la prueba definitiva se evaluaron las muestras que obtuvieron mayor puntaje

en la preliminar, con modificaciones. Para ello los panelistas marcaron una categoría en la escala, que va desde "no me gusta nada" hasta "me gusta mucho". En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra. Las muestras se presentaron de forma simultánea en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos, en un orden de presentación balanceado (Stone y Sidel 1993).

6.18 Evaluación nutricional de las tostadas

El contenido nutricional de las tostadas fue determinado con los métodos de la AOAC 2006, como se describió anteriormente en el apartado 4.4.

6.19 Análisis estadístico

Los datos de los experimentos se obtuvieron de tres muestras independientes y cada una de ellas fue analizada por triplicado para determinar si las varianzas fueron estadísticamente homogéneas, y los resultados expresados como medias \pm SD. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de una prueba de Duncan utilizando SPSS 17 Software. La diferencia se considera significativa cuando los valores de p están por debajo de 0.05.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Etapa 1: Selección de cereales y leguminosas y estandarización del método de esterilización.

7.1.1 Análisis químico proximal de cereales y leguminosas

Para la selección de los sustratos, se realizaron pruebas preliminares del contenido nutrimental de dos variedades de frijol y tres cereales, siendo el frijol negro el de mayor contenido de proteína. La avena en comparación al resto de los cereales, destaca por su alto contenido de proteína, grasa y fibra, por lo que se eligieron el frijol negro, el frijol bayo y la avena en grano como sustratos para aplicar el tratamiento de fermentación con *Pleurotus ostreatus*, para la obtención de las harinas (Tabla 11).

Tabla 11. Componentes nutricionales de cereales y leguminosas

%	FN	FB	TR	AR	AV
Proteína	26.8 ± 1.6 ^d	22.7 ± 1.6 ^c	15.2 ± 0.1 ^b	11.3 ± 0.3 ^a	16.1 ± 0.1 ^b
Grasa	3.3 ± 0.03 ^b	3.8 ± 0.4 ^b	3.5 ± 0.04 ^b	0.4 ± 0.3 ^a	5.4 ± 0.5 ^c
Minerales	3.6 ± 0.7 ^b	3.2 ± 0.07 ^a	4.1 ± 0.9 ^c	3.8 ± 0.01 ^d	3.8 ± 0.04 ^c
Agua	4.3 ± 0.4 ^b	3.9 ± 0.4 ^{ab}	3.3 ± 0.1 ^a	3.9 ± 0.7 ^{ab}	5.9 ± 0.2 ^c
Fibra	4.1 ± 0.1 ^c	4.71 ± 0.2 ^d	1.30 ± 0.1 ^b	0.73 ± 0.1 ^a	6.31 ± 0.1 ^e
Carbohidratos	57.6 ± 1.4 ^a	61.5 ± 1.6 ^b	72.6 ± 0.6 ^c	79.4 ± 0.6 ^d	62.3 ± 0.1 ^b

Frijol negro (FN), frijol bayo (FB), trigo (TR), arroz (AR) y avena (AV). Los datos son la media ± DE de tres repeticiones, los valores medios etiquetados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.2 Estandarización del tratamiento de esterilización

Para la estandarización del tratamiento de esterilización de las leguminosas y el cereal, previo a la inoculación se realizaron pruebas con diferentes contenidos de sustrato (FN, FB y AVG) en gramos y contenido de agua, las cuales se muestran en las tablas 7, 8 y 9. En la prueba 1 se esterilizaron las dos variedades de frijol observando que el sustrato absorbió toda el agua quedando muy poca humedad además que el sustrato no deja suficiente espacio para la fermentación, se agitó el sustrato previo a la esterilización en la segunda prueba para evitar que el sustrato se comprimiera. En la segunda prueba se agregaron los mismos gramos de sustrato y se aumentó la cantidad de agua a 160 mL observando que el sustrato absorbió toda el agua pero si presentó cocimiento. En la tercera prueba se disminuyeron los gramos de sustrato agregando la misma cantidad de agua (160 mL) y también disminuyéndola a 120 mL, logrando condiciones de humedad adecuadas para la fermentación sin cocimiento del sustrato, en las leguminosas con 160 mL de agua y logrando estas mismas condiciones en la AVG con 120 mL. Éstas se eligieron como tratamiento de esterilización previo a la inoculación. En todas las prueba se comprobó esterilidad del sustrato manteniéndose sin contaminación durante una semana.

7.2 Etapa 2. Aplicación del método de fermentación, evaluación nutricional y funcional de las harinas obtenidas

La cantidad de harina obtenida, incluido el micelio producido durante la fermentación con *Pleurotus ostreatus*, es equivalente a los gramos de sustrato utilizados en peso seco (FN, FB, AVG), por lo que hay solo una bioconversión del sustrato a micelio, no existiendo diferencia significativa entre los sustratos (Tabla 12).

Tabla 12. Bioconversión de los granos a micelio durante la fermentación

Granos	(%)
FN	97.30 ± 0.78 ^a
FB	98.60 ± 1.9 ^a
AVG	98.50 ± 0.29 ^a

Frijol negro, FN; frijol bayo, FB y avena, AVG. Los datos son la media ± DE de tres repeticiones, de tres lotes diferentes, los valores medios etiquetados con la misma letra, no son significativamente diferentes ($p \geq 0.05$).

7.2.1 Análisis químico proximal

Los resultados de la composición química correspondientes a las variedades de frijol negro, frijol bayo y avena sin fermentar (FN, FB, AVG) y las fermentadas con *Pleurotus ostreatus* (FNP, FBP, AVGP) se muestran en la tabla 13. Se puede observar el efecto de la fermentación con un aumento significativo del 13% y 6% en el contenido de proteína en el frijol bayo y avena, respectivamente, esto se atribuye al aumento de la síntesis de aminoácidos como consecuencia de la fermentación con *Pleurotus ostreatus* (Bautista et al. 1998). Con respecto al contenido de fibra dietética, los valores obtenidos para las leguminosas en 100g de base seca, fueron los siguientes: 45.09 g (FN), 27.80 g (FB) y 13.48 g (AVG), que son mayores que los reportados por el USDA, 5.5 g para frijoles negros crudos, 8.7 g para frijoles negros cocidos, 4.9 g para frijoles crudos, 9.3 g para frijoles cocidos y 10.6 g para avena cruda y 2.6 g para avena cocida (USDA). El proceso de fermentación en los frijoles negros y avena, redujo el contenido de fibra dietética, el cual disminuyó significativamente en un 59% y 22% respectivamente, atribuible a la acción de las enzimas de *Pleurotus ostreatus*, como celulasa, hemicelulasa, xynalasa y lacasa (Vega y Franco 2012). Se ha reportado que *P. ostreatus*, utiliza selectivamente la lignina y la celulosa para su crecimiento; estos compuestos (lignina y celulosa) forman parte de la fibra dietética en leguminosas y cereales. La disminución de estos carbohidratos estructurales permite la transformación de almidón resistente en almidón

disponible, que en el caso de los frijoles negros, presentan un valor alto de fibra dietética (48.73%). A diferencia de FBP la fibra significativamente aumentó un 16%. Estas diferencias podrían explicarse, ya que la acción del hongo depende del sustrato, especie o la variedad de sustrato que se usa; el hongo ajusta sus sistemas enzimáticos (enzimas hidrolasas, óxido reductasas, etc.) en relación con las condiciones del sustrato, principalmente la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno, deslignificación selectiva, contenido de proteína cruda, materia seca y el umbral de disponibilidad del sustrato en el grano para el crecimiento del hongo después de la inoculación (Raya et al. 2014). La forma en que las enzimas del hongo actúan para obtener los nutrientes necesarios para el crecimiento depende en el sustrato; en el caso de FB, tiene un índice de dureza más alto (Deshpande et al. 1984), y tiene menos permeabilidad por lo que el hongo no puede actuar de la misma manera que en los frijoles negros, lo que podría explicar las diferencias en el composición (Morales et al. 2017). Estos resultados son congruentes con lo presentado en las tablas 16 y 17, donde se presentan los resultados de contenido de fenoles totales y actividad antioxidante; en el caso del frijol bayo fermentados, no muestran un aumento en el contenido polifenoles totales y actividad antioxidante. El contenido de grasa destaca un aumento significativo del 97% en el AVGP con respecto a AVG, que puede haber sido debido a la grasa del hongo, ya que se ha mostrado un valor del 4.8% de este componente en *Pleurotus ostreatus* (Papaspnyridi et al 2012); esto también le sucedió a las leguminosas, asumiendo que el hongo se encuentra en una mayor proporción en avena, debido al hecho de que los cereales como los granos de malta, trigo, el arroz, la avena y el maíz son sustratos más accesibles para el hongo, lo que les facilita el crecimiento (Wang et al. 2001), como se observó con otras especies de este hongo, como *Pleurotus pulmonaris*, donde se ha reportado un valor del 3% de este componente (Vega y Franco 2012). Es importante considerar que los aumentos en algunos nutrientes pueden ser una respuesta al porcentaje de disminución en otros.

Tabla 13. Componentes nutricionales de las diferentes harinas obtenidas

%	FN	FNP	FB	FBP	AVG	AVGP
Proteína	23.62 ± 1.1 ^c	22.80 ± 2.8 ^c	22.81 ± 1.3 ^c	25.78 ± 2.3 ^d	11.78 ± 1.2 ^a	12.56 ± 0.6 ^b
Grasa	2.08 ± 0.3 ^{bc}	1.67 ± 0.3 ^{abc}	1.86 ± 0.6 ^{ab}	1.68 ± 0.1 ^a	2.44 ± 0.4 ^c	4.80 ± 0.6 ^d
Minerales	4.90 ± 0.1 ^c	4.58 ± 0.3 ^c	4.63 ± 0.2 ^c	4.02 ± 0.1 ^c	1.61 ± 0.1 ^b	0.83 ± 0.5 ^a
Agua	48.73 ± 0.5 ^f	20.0 ± 0.5 ^c	29.18 ± 0.1 ^d	33.88 ± 0.3 ^e	14.00 ± 0.1 ^b	10.92 ± 0.7 ^a
Fibra	20.69 ± 0.7 ^a	50.95 ± 0.9 ^d	41.52 ± 0.5 ^c	34.64 ± 1.5 ^b	70.17 ± 0.4 ^e	70.89 ± 0.6 ^f
Carbohidratos	23.62 ± 1.1 ^c	22.80 ± 2.8 ^c	22.81 ± 1.3 ^c	25.78 ± 2.3 ^d	11.78 ± 1.3 ^a	12.56 ± 0.6 ^b

Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los datos son la media ± DE de tres repeticiones, de tres lotes diferentes, los valores medios etiquetados con la misma letra no son significativamente diferentes (p < 0.05).

7.2.2 Hidrólisis de la proteína

En las figuras 4, 5, 6 y 7, se muestran los péptidos libres en la harina de frijol y avena fermentados con *Pleurotus ostreatus* y sin fermentar después de la hidrólisis enzimática por tiempos de 0, 30, 60 min para pepsina y 0, 30, 60, 90 y 120 min para pancreatina, observándose en tiempo 0 mayor cantidad de peptidos libres en las harinas fermentadas con valores de absorbancia FNP 0.529 nm, FBP 0.479 nm, AVGP 0.580 nm y para las no fermentadas FN 0.161 nm, FB 0.262 nm y AVG 0.128 nm, que nos dice que las harinas tratadas tienen mayor cantidad de peptidos libres, lo cual coincide con la literatura respecto a que la fermentación con *Pleurotus ostreatus* hace a las proteínas más disponibles además de sintetizar mayor proporción de aminoácidos esenciales (Bautista et al. 1998) y así mismo a los 120 min después de la hidrólisis con ambas enzimas valores FNP 1.602, FBP 1.650, AVG 1.541 FN 1.285, FB 1.28, AVG 1.205 siendo el FNP el que alcanza un valor más alto de absorbancia es decir con mayor peptidos disponibles.

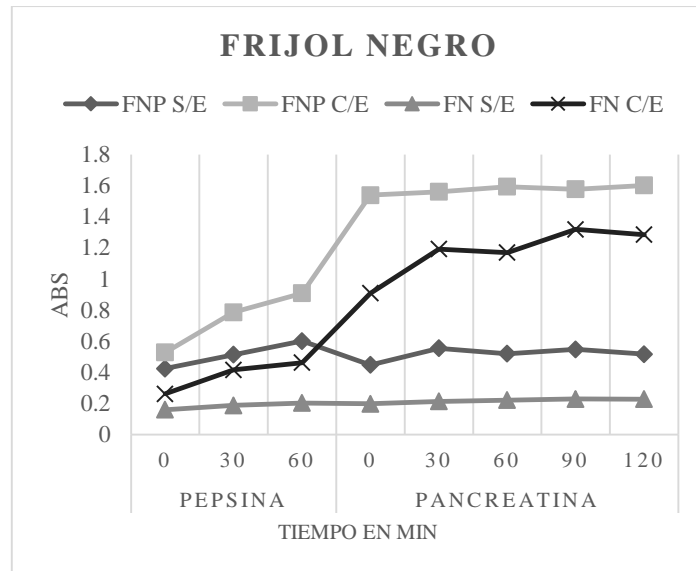


Figura 4. Gráfica de la hidrólisis enzimática de la proteína en el frijol negro con y sin *Pleurotus ostreatus*

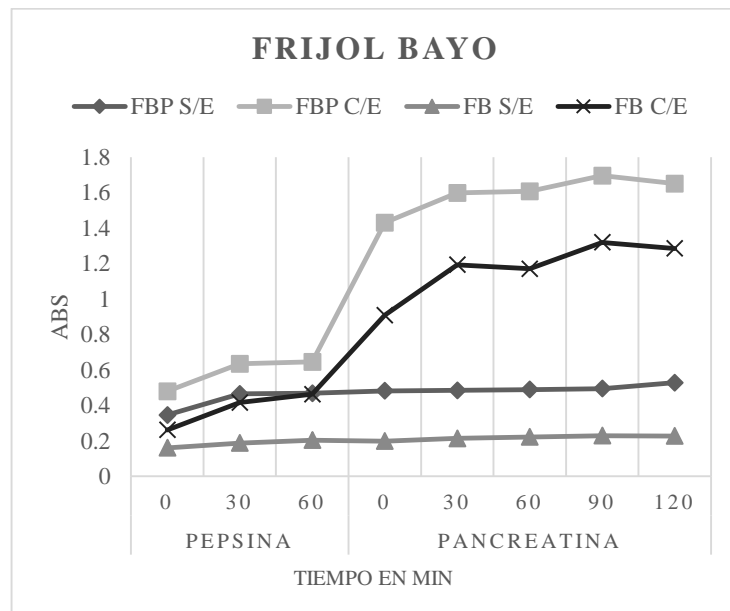


Figura 5. Gráfica de la hidrólisis enzimática de la proteína en el frijol bayo con y sin *Pleurotus ostreatus*

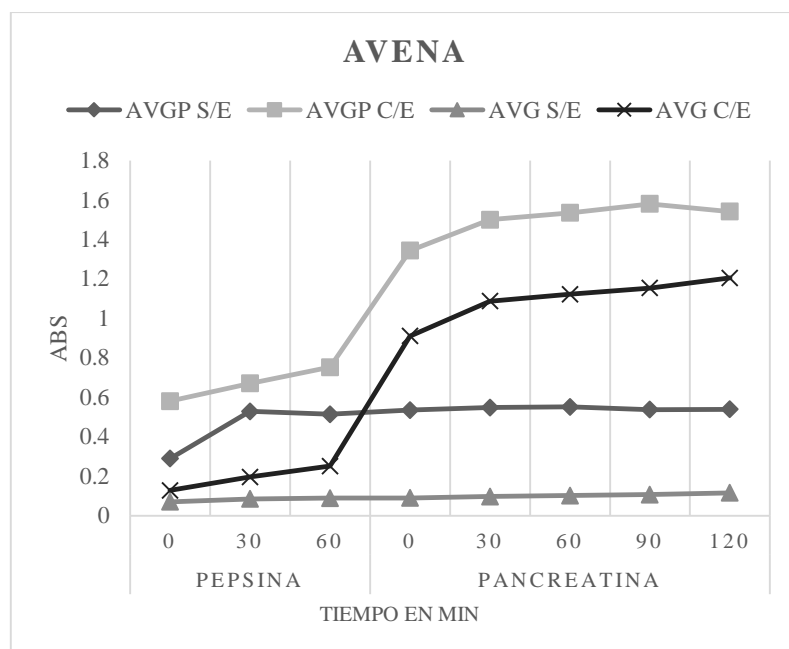


Figura 6. Gráfica de la hidrólisis enzimática de la proteína en el avena en grano con y sin *Pleurotus ostreatus*

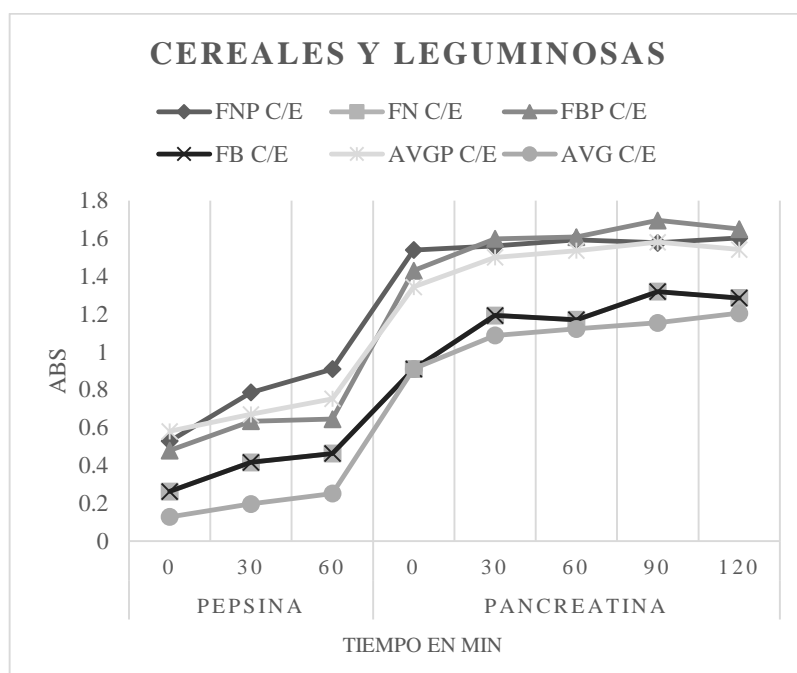


Figura 7. Gráfica de la hidrólisis enzimática de la proteína en cereales y leguminosas con y sin *Pleurotus ostreatus*

7.2.3 Perfil de aminoácidos

Se muestran los resultados del perfil de aminoácidos en la tabla 14, se observa tanto en la avena, como en las leguminosas fermentadas un incremento significativo de la mayoría de los aminoácidos esenciales (Isoleucina, leucina, fenilalanina, valina, treonina y metionina); confirmando el efecto del *Pleurotus ostreatus* en la síntesis de aminoácidos esenciales (Bautista et al. 1998). También destaca el aumento significativo de los aminoácidos azufrados metionina y cisteína con valores de 22.45mg/g de proteína y 49.19 mg/g de proteína, en los tratamientos fermentados de frijol bayo y avena respectivamente siendo esto de importancia para mejorar la calidad de las proteína de las harinas. La lisina y la arginina disminuyeron en todos los tratamientos, estos aminoácidos son básicos (Badui 2006) y el proceso de la fermentación con el hongo se mantiene en un pH menor de 4 por lo que probablemente se vieron afectados e inestabilizados por el mismo (Díaz et al. 2010). Los valores obtenidos de estos aminoácidos en los productos fermentados, son similares a los reportados para *P. ostreatus* (Bautista et al. 1998).

Tabla No. 14. Efecto de *Pleurotus ostreatus* en el perfil de aminoácidos

Harinas						
Aminoácido (mg/g proteína)	FN	FNP	FB	FBP	AVG	AVGP
Asparagina	125.29 ^e	124.22 ^c	125.40 ^e	124.88 ^d	87.30 ^a	88.33 ^b
Treonina	46.11 ^c	47.30 ^d	49.51 ^e	49.56 ^e	37.04 ^a	39.17 ^b
Serina	53.10 ^d	51.60 ^c	53.68 ^e	52.96 ^d	46.74 ^b	45.00 ^a
Glutamina	157.89 ^c	154.80 ^b	153.63 ^a	154.52 ^b	217.81 ^e	212.50 ^d
Prolina	46.58 ^b	48.73 ^c	34.71 ^a	49.08 ^d	60.85 ^e	61.67 ^f
Glicina	41.92 ^a	43.00 ^b	44.89 ^c	43.25 ^b	54.67 ^d	56.67 ^e
Alanina	42.85 ^a	45.87 ^d	44.89 ^b	45.19 ^c	50.26 ^e	53.33 ^f
Valina	59.62 ^b	64.50 ^f	60.62 ^c	63.65 ^e	57.32 ^a	61.67 ^d
Metionina + Cisteína	20.44 ^a	22.45 ^c	21.29 ^a	21.87 ^b	47.62 ^d	49.19 ^d
Isoleucina	49.84 ^c	53.03 ^d	49.98 ^c	52.96 ^d	41.45 ^a	45.83 ^b
Leucina	87.10 ^d	88.87 ^e	86.07 ^c	89.89 ^f	82.01 ^a	84.17 ^b
Tirosina	30.74 ^c	32.97 ^e	32.39 ^d	33.04 ^e	27.34 ^a	28.33 ^b
Fenilalanina	61.95 ^d	63.07 ^e	60.62 ^c	63.65 ^f	56.44 ^a	57.50 ^b
Hidroxilisina	1.40 ^a	3.34 ^d	1.39 ^a	1.94 ^b	2.65 ^c	3.33 ^d
Ornitina	0.47 ^a	0.96 ^d	0.93 ^c	0.97 ^d	0.88 ^b	1.67 ^e
Lisina	68.93 ^d	52.56 ^b	68.49 ^d	56.37 ^c	47.62 ^b	34.17 ^a
Histidina	28.88 ^f	25.80 ^d	28.69 ^e	25.27 ^c	22.93 ^b	20.83 ^a

Arginina	57.29 ^c	49.21 ^a	60.62 ^d	51.02 ^b	67.02 ^e	60.83 ^d
Triptófano	10.71 ^c	10.51 ^b	11.11 ^d	11.18 ^d	14.99 ^e	10.00 ^a

Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los datos son la media \pm DE tres repeticiones, de tres lotes diferentes, los valores medios etiquetados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.4 Digestibilidad in vitro, nitrógeno soluble y taninos

Los valores de digestibilidad in vitro obtenidos para las harinas de frijol no fermentadas que se muestran en la Tabla 15, fueron FB 39.99% y FB 44.06%. Estos fueron más altos que los informados previamente (Mojica et al 2014), que presentan valores menores del 35% en *Phaseolus vulgaris* en harinas crudas y precocinadas. Los frijoles negros fermentados con el hongo (FNP) presentaron una digestibilidad de 48.13%, que es similar a los valores reportados para frijoles negros fermentados con *Bacillus sp.* (Starzynska-Janiszewska et al. 2014). El frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP) tuvo una mayor digestibilidad con 69%, y es más alto que otros anteriormente reportados (Mojica et al 2014), que tienen valores por debajo del 50% para la frijoles crudos y cocidos. De manera similar, ambos tratamientos de frijoles fermentados (FNP y FBP) tuvieron una digestibilidad más alta que los reportados para frijoles fermentados con otros microorganismos, como *Rhizopus microsporus var.*, *Chinensis* y *Lactobacillus plantarum* 33.87 y 35.09%, respectivamente (Starzynska-Janiszewska et al. 2014). Los valores de digestibilidad para las harinas AVG y AVGP fueron 63.25% y 70% respectivamente, siendo similares a aquellas reportadas por otros autores (Mkandawire et al. 2015). La digestibilidad de la proteína aumentó significativamente en todos los fermentados con *Pleurotus ostreatus* debido a que este hongo tiene una gran selectividad de deslignificación, que degrada el sustrato y hace a las proteínas más digeribles (Tripathi y Yadav 2015).

Los valores de nitrógeno soluble presentaron una diferencia significativa entre los tratamientos fermentados y no fermentados con *Pleurotus ostreatus*, lo que confirma el efecto de *Pleurotus ostreatus* sobre la disponibilidad de la proteína (Tabla 15). Además,

la capacidad del hongo para reducir los taninos, favoreció el aumento de la digestibilidad de la proteína (Aw y Swanson 1985). Los contenidos de taninos presentados en la Tabla 15, muestran una disminución significativa en todos los productos fermentados, con un 66% para FBB, un 34% para FBP y un 49% para AVGP. Fan et al. 2000, informó que el hongo es capaz de reducir o eliminar los antinutrientes de taninos principalmente por la acción de una tanasa presente en el hongo, que finalmente destruye los taninos (Rodrigues et al 2013). Los valores de taninos de las muestras de frijoles no fermentados fueron similares a los reportados previamente (Díaz et al. 2010). La disminución en la concentración de taninos ha sido también reportada en la fermentación láctica de *Phaseolus vulgaris* (Granito et al 2008).

Tabla 15. Digestibilidad de la proteína, nitrógeno soluble y contenido de taninos

Harina	Digestibilidad proteina (%)	Nitrógeno soluble (%)	Contenido taninos (mg/100g)
FN	39.99 ± 1.71 ^a	4.39 ± 0.80 ^a	65.21 ± 0.027 ^a
FNP	48.13 ± 0.78 ^b	8.39 ± 2.3 ^b	22.07 ± 0.016 ^b
FB	44.06 ± 1.71 ^b	2.63 ± 1.0 ^c	35.54 ± 0.086 ^c
FBP	69.01 ± 1.14 ^c	3.79 ± 1.5 ^d	23.37 ± 0.017 ^b
AVG	63.25 ± 1.65 ^c	3.83 ± 0.4 ^d	55.67 ± 0.057 ^d
AVGP	70.01 ± 0.30 ^d	5.72 ± 0.22 ^e	28.11 ± 0.030 ^e

Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los datos son la media ± DE tres repeticiones, de tres lotes diferentes, los valores medios etiquetados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.5 Actividad antioxidante y fenoles totales

El contenido de actividad fenólica y antioxidante total en harinas se evaluó antes y después de digestión simulada, gástrica e intestinal (Tablas 16 y 17). La presencia de fenoles totales en leguminosas y cereales ha sido documentado en estudios previos (Xu et al. 2007). El contenido inicial de fenoles para los diferentes tratamientos fue de 0.85 a 2.89 mg de ácido gálico / g de harina, mientras que Zielin'ski y Kozłowska 2000, obtuvieron 2.89 mg / g para AVG como el más alto. Los tratamientos de frijoles negros y avena con *Pleurotus ostreatus* tuvieron un aumento significativo en los contenidos fenoles totales, es decir, un 26.35% en FN y un 240% en relación con el AVG. Este hongo es un basidiomiceto, que excreta al menos tres oxidasas diferentes de fenol; estos son utilizados para degradar la lignina y obtener carbono y otros nutrientes. Estas lacasas (fenol oxidasas) son agentes independientes que catalizan reacciones, incluida la oxidación de $Mn + 2$ y $Fe + 2$, que pueden polimerizar, despolimerizar o transformar una amplia gama de compuestos fenólicos (Sinsabaugh 2010).

Este aumento puede deberse no solo a la síntesis de fenoles en el micelio o hidrólisis de compuestos fenólicos conjugados (Vergara et al. 2011), sino también a la desaminación de aminoácidos aromáticos fenilalanina y el precursor de la tirosina de los ácidos fenólicos (Granito et al 2008); además, las fenol oxidasas del hongo también producen importantes bioconversiones industriales de muchos compuestos xenobióticos aromáticos de lignina (Giardina et al 2000). La actividad antioxidante en los tratamientos fue de 1.2 a 1.73 mg Trolox equivalente / g en harinas de frijoles superiores a los valores obtenidos para avena, AVG 0.40 mg / g y AVGP 1.30 mg / g; esta variación entre harinas de avena y frijoles puede deberse simplemente a los diferentes tipos de compuestos antioxidantes que contienen, así como a su concentración (Cardador et al 2002; Peterson 2001). En relación con el efecto del hongo en la harina, los tratamientos de frijol negro y avena fermentados aumentaron significativamente la actividad antioxidante; FNP presentó un aumento de 39.5% en FN y AVGP 225% en relación con el AVG, atribuyéndolo al hongo en estos tratamientos. Hubo un aumento significativo de polifenoles debido a la despolimerización o hidrólisis de polifenoles conjugados, que no ocurre en FBP, en la cual no hubo un

aumento de la actividad antioxidante; suponiendo que la disponibilidad de umbral de los compuestos no es la misma, debido al hecho de que el testa del frijol bayo es más dura (Deshpande 1984) porque tiene un contenido de celulosa más alto que la testa del frijol negro (Labaneiah y Luh 1981). El hongo degrada las moléculas de lignina por acción de enzimas ligninolíticas (lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa) y luego puede acceder a polisacáridos ricos en energía para el crecimiento y el metabolismo (Sharma y Aora 2015). En este caso, las enzimas fenol oxidasa no podrían actuar de la misma manera, degradando compuestos fenólicos conjugados al no tener suficiente acceso a ellos (Xu y Chang 2008). Las variedades de frijoles tienen diferentes características, dependiendo de la adaptación natural al medio ambiente y la testa más dura de la semilla, la permeabilidad y la posibilidad de acceso de los microorganismos disminuyen, entonces la testa protege el endospermo de ataques microbianos, asumiendo una mayor resistencia a la acción del hongo (Morales et al. 2012). Después de la digestión, la actividad antioxidante aumentó tanto en harina no fermentada y harina fermentada, alcanzando valores de Trolox de 3.04 a 8.97 mg / g y de 5.04 a 13.31 mg / g, respectivamente. Esta presentó un aumento de siete veces en FNP.

Con respecto a las actividades del contenido fenólico total en la digestión simulada, se observó que al final de la digestión, los valores variaron de 2.72 a 4.23 mg / g en no fermentados y de 4.91 a 6.85 mg / g en harinas fermentadas con el hongo, aumentando tres veces en FNP. Este aumento fue la tendencia en todos los tratamientos. Esto es contrario a los resultados publicados por otros autores (Bouayed et al. 2011), que informan que el contenido de actividad fenólica y antioxidante total tiende a disminuir después de la digestión, debido a los fluidos de pH bajo durante la digestión gástrica y la interacción con otros compuestos como minerales, fibra y proteína en los alimentos, lo que afecta la solubilidad y la disponibilidad de los polifenoles. Sin embargo, es sabido que las antocianinas (compuestos antioxidantes presentes en muchas leguminosas) resisten el pH bajo y las protegen; esto probablemente explica la tendencia observada en nuestros resultados. Además, lo atribuimos a la acción de las enzimas del hongo en la fibra, dejándola más disponible o accesible para antioxidantes. Esto es muy importante ya que los antioxidantes desempeñan un papel protector en el gastrointestinal, mientras mantiene

el equilibrio redox contra los agentes antioxidantes dañinos, ayudando a la prevención de enfermedades gastrointestinales durante el proceso de digestión (Bouayed et al. 2011).

Tabla 16. Efecto de *Pleurotus ostreatus* en el contenido de fenoles totales

Flour	FOLLIN (mg ác. Gálico/g harina)		
	Inicial	G.D.*	I.D.**
FN	1.48 ± 0.01 ^b	1.94 ± 0.05 ^c	3.30 ± 0.06 ^a
FNP	1.87 ± 0.24 ^b	2.10 ± 0.00 ^d	6.85 ± 0.03 ^c
FB	1.59 ± 0.10 ^b	1.82 ± 0.02 ^{ab}	4.23 ± 0.09 ^a
FBP	1.59 ± 0.01 ^b	1.77 ± 0.06 ^a	4.78 ± 0.20 ^b
AVG	0.85 ± 0.76 ^a	1.88 ± 0.02 ^b	2.72 ± 0.49 ^a
AVGP	2.89 ± 0.34 ^c	2.12 ± 0.08 ^d	4.91 ± 0.06 ^b

* Digestión gástrica; ** digestión intestinal. Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar, de tres lotes diferentes. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes (p <0.05).

Tabla 17. Efecto de *Pleurotus ostreatus* en la actividad antioxidante

Harina	DPPH (mg Trolox/g harina)		
	Inicial	G.D.*	I.D.**
FN	1.24 ± 0.04 ^b	2.89 ± 0.53 ^b	8.97 ± 0.73 ^d
FNP	1.73 ± 0.09 ^c	3.90 ± 2.21 ^d	13.31 ± 1.63 ^f
FB	1.2 ± 0.01 ^b	2.42 ± 0.51 ^a	7.2 ± 0.29 ^c
FBP	1.2 ± 0.08 ^b	3.24 ± 0.04 ^c	9.39 ± 0.01 ^e
AVG	0.40 ± 0.03 ^a	2.27 ± 0.77 ^a	3.04 ± 0.31 ^a
AVGP	1.30 ± 0.08 ^b	2.85 ± 0.37 ^b	5.04 ± 0.25 ^b

* Digestión gástrica; ** digestión intestinal. Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar, de tres lotes diferentes. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes (p <0.05).

7.2.6 Capacidad de absorción de agua y grasa, capacidad emulsificante y pH

El capacidad de absorción de agua de las harinas juega un papel importante en el proceso de preparación de los alimentos, ya que influye en otras propiedades funcionales y sensoriales, en las leguminosas se correlaciona directamente con sus propiedades culinarias y afectan a sus propiedades de procesamiento de alimentos, la capacidad de absorción de agua de las harinas de leguminosas osciló de 1.93 a 2.25g (Tabla 18), siendo mayores a los reportados por Chau en 1998, los tratamientos de leguminosas presentaron mayor capacidad siendo FNP el más alto, esto se debe probablemente, a que la harina de leguminosas contiene varios componentes muy solubles en agua, tales como los polisacáridos, por lo que general tienen una alta capacidad de absorción de agua. (Kaur y Singh 2005). Por otra parte, los tratamientos con *P. ostreatus* en las harinas de frijol negro y avena, en comparación con las muestras que no fueron fermentadas con el hongo, aumentaron significativamente la capacidad de absorción de agua, suponiendo que el efecto que tuvo el hongo sobre la calidad de la proteína, también influye, ya que la proteína más disponible, hace que aumente esta propiedad, es decir el *Pleurotus* mejora esta capacidad en los frijoles y en la avena (Moure et al. 2006). La capacidad de absorción de aceite de las harinas de frijoles (Tabla 18) varió de 1.04 a 1.59 g valores similares a los reportados anteriormente por (Shuang-kui et al. 2013). Así mismo las harinas de leguminosas con *Pleurotus ostreatus* aumentaron significativamente su capacidad de absorción de aceite, suponiendo que el *Pleurotus* produce alteraciones estructurales de la proteína que favorecen a la retención de la grasa (Granito et al. 2004), siendo esto importante ya que la capacidad de absorción de aceite se utiliza en la mayoría de las aplicaciones de alimentos, como en productos de panadería en donde se requieren la retención del sabor y la mejora de la palatabilidad. Los almidones presentes en las muestras también tienen la capacidad de absorber agua, hincharse, retener agua y grasas (García et al. 2012). Se obtuvieron valores de capacidad emulsificante (Tabla 18) que oscilaron entre 43.1 y 47.6%, siendo la AVG la que presentó el valor más alto. Se observó de nuevo el efecto del hongo en esta propiedad, ya que se las muestras de frijol fermentadas con *Pleurotus ostreatus* aumentaron significativamente en relación a las que no fueron fermentadas, comprobando de nuevo su efecto sobre la proteína de los granos,

para absorber a la zona interfacial de aceite y agua, favoreciendo la formación de la emulsión (Shuang-kui et al. 2013). No sucedió lo mismo en la avena fermentada, la cual presenta una disminución de esta capacidad, asociándolo a la disminución de la capacidad en la absorción de aceite, las cuales están directamente relacionadas.

Tabla. 18 Capacidad absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, capacidad emulsificante y Ph

Harinas	g agua/ g harina	g aceite/ g harina	% capacidad emulsificante	Ph
FN	2.22 ± 0.25 ^a	1.40 ± 0.42 ^a	43.11 ± 2.22 ^a	6.10 ± 0.02 ^a
FNP	2.25 ± 0.19 ^b	1.62 ± 0.22 ^a	45.13 ± 2.19 ^b	5.42 ± 0.02 ^b
FB	1.93 ± 0.01 ^c	1.04 ± 0.47 ^b	44.24 ± 0.89 ^a	5.90 ± 0.02 ^{ab}
FBP	2.16 ± 0.18 ^c	1.59 ± 0.43 ^c	43.37 ± 1.85 ^c	5.74 ± 0.02 ^b
AVG	1.45 ± 0.02 ^d	1.36 ± 0.12 ^{ac}	47.56 ± 2.00 ^a	6.04 ± 0.02 ^a
AVGP	1.74 ± 0.23 ^a	1.11 ± 0.18 ^c	43.26 ± 1.21 ^c	5.08 ± 0.02 ^b

Frijol Negro (FN); Frijol negro con *Pleurotus ostreatus* (FNP); frijol bayo (FB); frijol bayo con *Pleurotus ostreatus* (FBP); avena (AVG) y avena con *Pleurotus ostreatus* (AVGP). Los valores son el promedio de tres repeticiones ± desviaciones estándar, de tres lotes diferentes. Los valores medios etiquetados con una letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

7.3 Etapa 3. Selección de formulaciones y su aplicación en alimento

Se realizó el PDCASS de diferentes formulaciones entre las diferentes harinas obtenidas (Tabla 19), de las cuales se escogieron las del más alto valor aminoacídico para la elaboración de una tostada. Creo que sería conveniente describir más los resultados de PDCASS

Tabla 19. Puntuación aminoacídica de las formulaciones de las harinas

AA	REF OMS/FAO mg /g pts	FNP/ AVGP	FNP/ AVGP	FNP/ AVG	FNP/ AVG	FN/ AVG	FN/ AVGP	FBP/ AVGP	FBP/ AVGP	FBP/ AVGP	FBP/ AVG	FB/ AVG	FB/ AVGP
		60/40	70/30	50/50	40/60	50/50	50/50	55/45	63/37	40/60	50/50	50/50	50/50
Trp	11	10.3	10.4	12.8	13.2	12.9	10.4	10.6	10.7	10.5	13.1	13.0	10.6
Thr	34	44.0	44.9	42.2	41.1	41.6	42.6	44.9	45.7	43.3	43.3	43.3	44.3
Ile	28	50.2	50.9	47.2	46.1	45.6	47.8	49.8	50.3	48.7	47.2	45.7	47.9
Leu	66	87.0	87.5	85.4	84.8	84.6	85.6	87.3	87.8	86.5	86.0	84.0	85.1
Lys	58	45.2	47.0	50.1	49.6	58.3	51.6	46.4	48.2	43.0	52.0	58.1	51.3
Met Cys	25	33.1	30.5	35.0	37.6	34.1	34.8	34.2	32.0	38.2	34.7	34.5	35.2
Tyr	63	65.5	61.5	65.0	68.0	67.4	71.8	119.0	123.3	110.8	111.8	111.8	116.3
Val	34	63.4	63.7	60.9	60.2	58.5	60.6	62.8	62.9	62.5	60.5	59.0	61.1
His	19	23.8	24.3	24.4	24.1	25.9	24.9	23.3	23.6	22.6	24.1	25.8	24.8
PDCASS		78.0	81.0	87.0	85.0	100.0	89.0	80.0	83.0	74.0	89.0	100.0	88.0

7.3.1 Evaluación sensorial del producto

Se realizó una evaluación sensorial preliminar de las tostadas elaboradas con las formulaciones descritas en la Tabla 20, a base de harinas de frijoles y avenas fermentadas y sin fermentar.

Tabla 20. Formulaciones con mayor puntuación aminocídica

FORMULACIÓN	Clave
FNP/AVG 60:50	708L
FNP/AVG 50:50	598D
FNP/AVG 40:60	482F
FBP/AVG 60:50	992E
FBP/AVG 50:50	344Y
FBP/AVG 40:60	673Z
FN/AVGP 60:50	167T
FN/AVGP 50:50	432R
FN/AVGP 40:60	536S

Proporción en Tostada = Formulación 40% Harina de Maíz 60%

Los resultados de esta prueba hedónica se presentan en la figura 8, en la cual podemos observar que en el atributo de aspecto se obtuvieron valores de 4.23 a 5.22, siendo la muestra 482F la que obtuvo la puntuación más alta y 167T la mas baja, aunque las muestras se encuentran en un grado de aceptabilidad, se identificó como área de oportunidad, mejorar la presentación del producto, ya que se les dio a probar la tostada en trozos, además que el color de las tostadas por el contenido de harina de frijol resultaron con un tono oscuro, sabiendo que la presentación y el color influyen de manera directa en este atributo (Wittig 2001). Por lo anterior, se propuso una modificación en la presentación para la evaluación definitiva. Así mismo se obtuvieron valores de 4.29 a 5.60 para el atributo de textura, siendo 482F la muestra más alta y la más baja la 708L presentando diferencia significativa entre ellas, las características negativas que el panel dio a este atributo, fueron “esta dura” “es algo dura y gruesa”. La muestra 482L fue la que presentó la puntuación más alta con 4.97 en sabor, al igual que los atributos de aspecto y textura, confirmando la relación o influencia que tiene el aspecto y textura al evaluar el atributo del sabor, debido a que existe una estrecha relación entre el sentido del gusto y el de la vista, y entre el gusto y el olfato (Wittig 2001) y la 432R fue la de valor más bajo junto con la 992E, las cuales presentan diferencias significativas con la primera, el resto de las muestras obtuvieron valores similares. En lo que respecta al olor, ninguna muestra presento diferencia significativa, obteniendo puntajes de 4.7 a 5.62 para ese atributo.

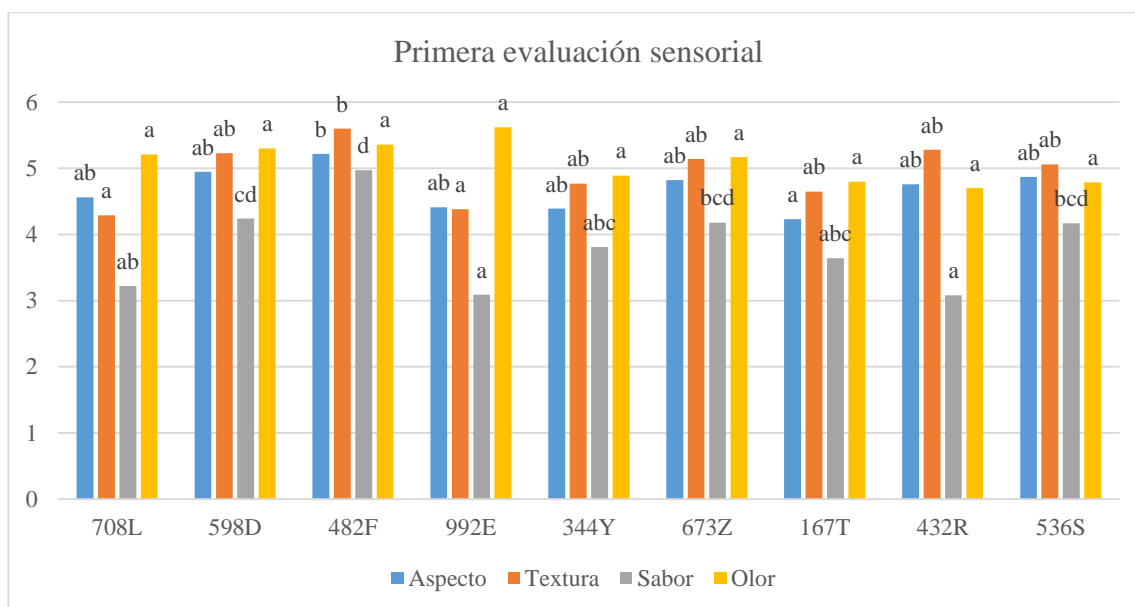


Figura 8. Escala hedónica de la primera evaluación sensorial para los tratamientos de tostadas con las diferentes formulaciones y siendo 1 no me gusta nada, hasta 10 me gusta mucho. Los valores medios etiquetados con una letra diferente son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Las muestras con mayor nivel de agrado y aceptabilidad (Figura 9), fueron las muestras 482F, 598D, 673Z y 536S con un valor de 5.30, 4.92, 4.81 y 4.69 respectivamente. Tres de las muestras más aceptadas coinciden en la proporción 40% de la formulación y 60% harina de maíz y en las tres formulaciones están incluidas las dos variedades de frijol y avena fermentadas, la única diferente estadísticamente a todas fue la 482F, el resto son iguales; la 598D es la única con proporción en la formulación 50-50. Por lo anterior, se propuso mejorar las tostadas elaboradas con los tratamientos 482F, 673Z y 536S para la realización de la segunda evaluación sensorial.

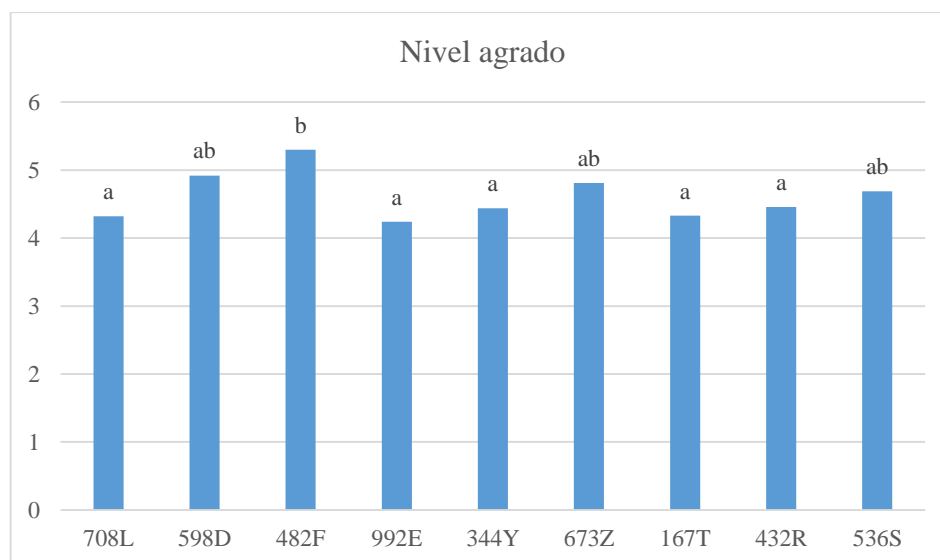


Figura 9. Nivel de agrado de la primera evaluación sensorial para los tratamientos de tostadas con las diferentes formulaciones y siendo 1 no me gusta nada, hasta 10 me gusta mucho. Los valores medios etiquetados con una letra diferente son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Se realizó una segunda evaluación sensorial del producto en una presentación diferente, usando para la elaboración de las tostadas, formulaciones a las cuales se les agregó chile en polvo, en cantidades que variaron de 1 a 2 cucharadas, como se describe en la tabla 21, además se cambió la presentación a porciones pequeñas individuales utilizando un molde circular de 2cm de circunferencia, mejorando así la presentación de las mismas con respecto a la primera evaluación sensorial. Los resultados de esta prueba hedónica se presentan en la figura 10, en la cual podemos observar que en el atributo de aspecto se obtuvieron valores de 4.04 a 5.95, siendo la muestra 580V la más baja y 324Z la que obtuvo la puntuación más alta, la cual es significativamente diferente al resto de las muestras, es decir la más aceptada de acuerdo al aspecto. Se obtuvieron valores de 4.69 a 5 para el atributo de textura, siendo la más alta la muestra 930N y la más baja la 324Z, no habiendo diferencia significativa entre ellas, el panel no mencionó características negativas en este atributo. En los atributos de sabor y olor tampoco hubo diferencia significativa entre las muestras. La muestra 324Z fue la que presentó la puntuación más alta en ambos atributos, al igual que en el atributo de aspecto, obteniendo 4.18 en sabor y

4.85 en olor. La muestra 930N fue la muestra que obtuvo la puntuación más baja en el atributo de sabor y la muestra 580V obtuvo el puntaje más bajo en el atributo del olor.

Aunque de acuerdo a promedios, la muestra 324Z fue la de mayor puntaje en tres atributos, en lo que respecta al nivel de agrado y aceptabilidad no se encontró diferencia significativa entre las muestras (Figura 11).

Tabla 21. Formulaciones segunda evaluación sensorial

FORMULACIÓN	Clave
FBP/AVG 50:50 2c chile en/tz	324Z
FNP/AVG 50:50 2c chile en/tz	580V
FN/AVGP 50:50 2c chile en/tz	930N
FB/AVG 50:50 2c chile en/tz	490F
FB/AVG 50:50 1c chile en/tz	112S
FN/AVG 50:50 2c chile en/tz	251M
FN/AVG 50:50 2c chile en/tz	680P
Maíz 100% 2c chile en/tz	720G

Proporción en Tostada = Formulación 40% Harina de Maíz 60%

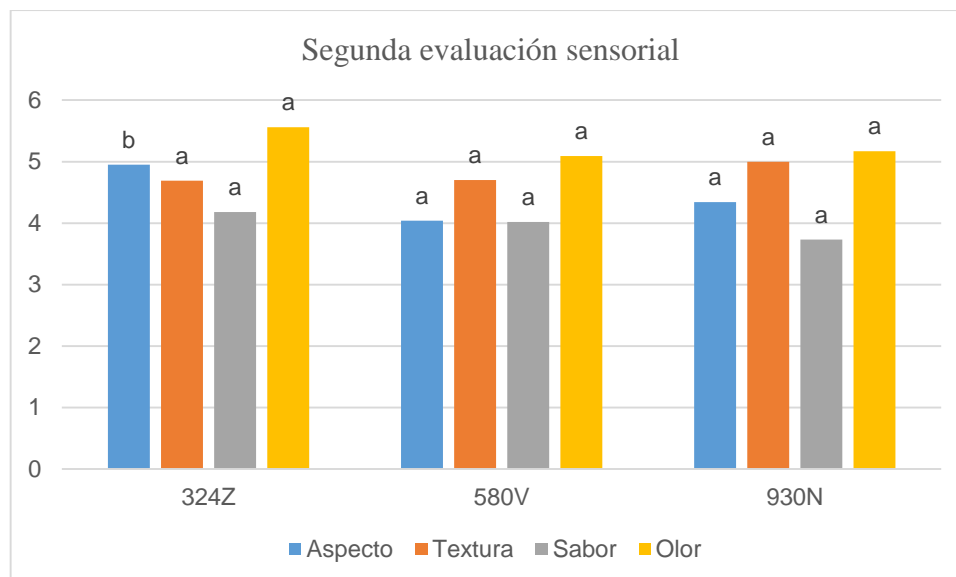


Figura 10. Escala hedónica de las tostadas elaboradas con las formulación elegidas, con chile en polvo, siendo 1 no me gusta nada, hasta 10 me gusta mucho. Los valores medios etiquetados con una letra diferente son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

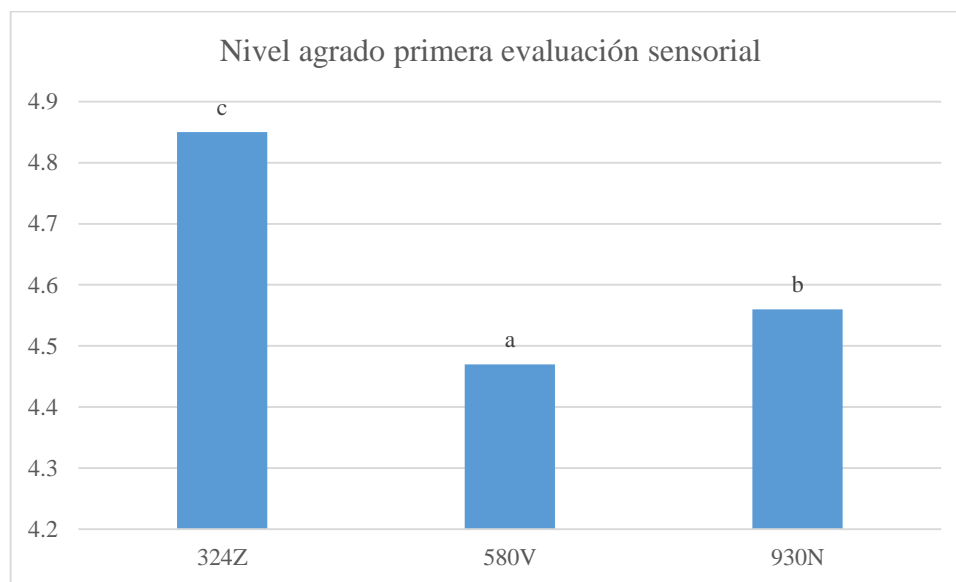


Figura 11. Nivel de agrado de las tostadas elaboradas con las formulación elegidas con chile en polvo, siendo 1 no me gusta nada, hasta 10 me gusta mucho. Los valores medios etiquetados con una letra diferente son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En esta segunda evaluación sensorial, también se evaluaron controles con harinas sin fermentar y un control 100% harina de maíz (Figura 12), en la que pudimos observar que en el nivel de agrado, la mayoría de los controles de las formulaciones con harinas de las variedades de frijol y avena sin fermentar 251M, 720G y 680P, no presentan diferencia significativa, respecto a las formulaciones con harinas fermentadas, solo el control 490F que corresponde a la formulación con FB y AVG sin fermentar con mayor concentración de chile en polvo y la muestra elaborada con harina 100% de maíz. Considerando que a pesar que esta última muestra se elaboró con el ingrediente más comúnmente utilizado y más consumido en este tipo de producto (100% maíz), no obtuvo una puntuación de 10, debido a que la tostada se elaboró de una forma artesanal, sin utilizar equipos y procesos a nivel industrial, suponemos que al mejorar la técnica, este producto puede tener mayor aceptabilidad. En esta figura 12, también podemos observar la comparación con las puntuaciones obtenidas por las muestras elegidas de la primera evaluación sensorial, las cuales tampoco son significativamente diferentes a las muestras de la segunda evaluación, corroborando lo anteriormente discutido. Con estas evaluaciones, se pudo comprobar la inclusión del ingrediente funcional en la elaboración de alimentos.

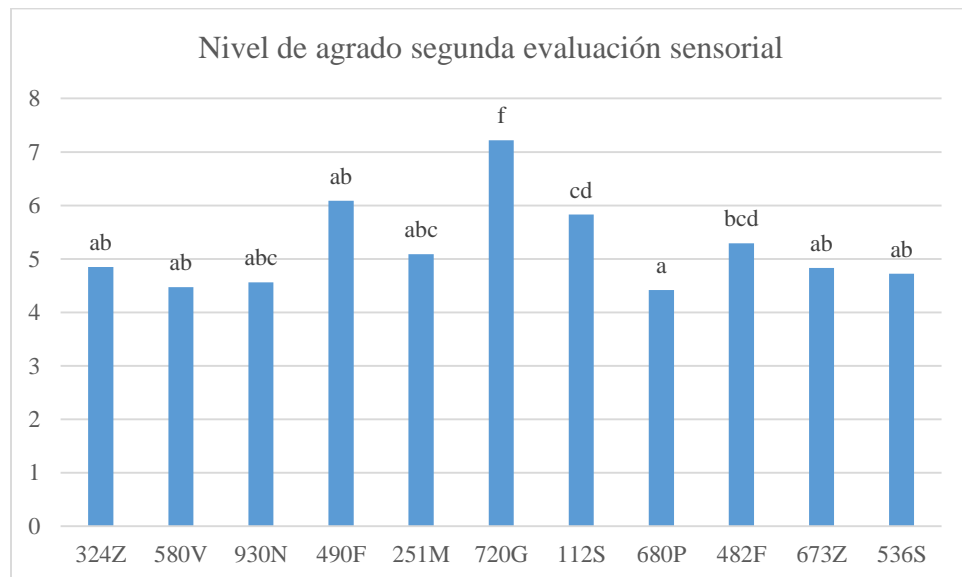


Figura 12. Escala hedónica para nivel de agrado y aceptabilidad de las tostadas elaboradas con las formulaciones elegidas, formulaciones con chile en polvo y controles, siendo 1 no me gusta nada, hasta 10 me gusta mucho.

7.3.2 Evaluación nutricional del producto

Los resultados de la composición química, correspondientes a las tres tostadas de mayor aceptabilidad (580V, 324Z, 930N), las cuales incluyen harinas fermentadas de frijol negro, frijol bayo y avena, se muestran en la tabla 22. La muestra con mayor contenido de proteína fue la 580V con 14.01% y la 930N la más baja con 13.67%, aunque no hubo diferencia significativa entre las mismas. Estos valores son mayores al contenido de proteína de las tostadas de maíz comerciales (“Los Charros”, “Norteñas”, “Charras” y “Mision”) que aportan 5.4%, 7.41%, 7.50% y 8.11% respectivamente (USDA 2017), es decir 150% más, pudiendo considerar estas tostadas, como alimentos con alto aporte de proteína en lo que respecta a este tipo de productos. Se destaca también el contenido de fibra dietética, 15.25% (580V), 15.94% (324Z) y 15.81% (930N), que son mayores a los reportados para las tostadas comerciales antes mencionadas, las cuales aportan de 5% a 10% (USDA 2017) y que hace a estos alimentos excelentes fuentes de fibra dietética.

En el contenido de grasa y carbohidratos, tampoco hay diferencia significativa entre las muestras, obteniendo valores de 3.32% a 3.70% para grasa y 58.74% a 59.92% en carbohidratos, destacando que el contenido de grasa es 84% menor que las comerciales, las cuales aportan alrededor de 22% de este nutrimento, debido al método de preparación, “freído”, en relación a las tostadas evaluadas, las cuales fueron horneadas.

Lo anterior, comprueba el uso de las harinas obtenidas, como ingrediente funcional para elaboración de alimentos, obteniendo en este caso, un alimento con alto aporte de proteína y fibra dietética, así como un alimento con bajo aporte de grasa, siendo una opción para aquellos individuos con condiciones en las que es necesario o saludable aumentar y/o disminuir estos nutrimentos respectivamente, como los pacientes con desnutrición, en el caso de las proteínas, en la cual un alto aporte o suplementación de las mismas, favorece su prevención, tratamiento y recuperación (Cramer J. et al 2016); pacientes con obesidad, diabetes, hipertensión y enfermedades gastrointestinales, en los cuales es importante el aporte adecuado de fibra, debido a su efecto protector (Ötles S. y Ozgoz S. 2014) y el bajo

aporte de grasa, ya que su alto consumo, aumenta el riesgo de dichas enfermedades (Medina et al. 2016).

Tabla 22. Evalaución nutricional del product

%	580V	324Z	930N
Proteína	14.01 ± 1.9 ^a	13.90 ± 0.11 ^a	13.67 ± 0.30 ^a
Grasa	3.32 ± 1.1 ^a	3.70 ± 0.44 ^a	3.55 ± 0.04 ^a
Minerales	3.90 ± 0.34 ^a	4.18 ± 0.90 ^b	3.89 ± 0.33 ^b
Agua	4.22 ± 1.7 ^b	3.68 ± 0.32 ^a	3.38 ± 0.19 ^a
Fibra	15.25 ± 0.1 ^a	15.94 ± 0.2 ^b	15.81 ± 0.1 ^b
Carbohidratos	58.94 ± 1.4 ^a	58.78 ± 0.13 ^a	59.92 ± 0.28 ^a

Tostadas con mayor nivel de agrado y aceptabilidad. Los datos son la media ± DE de tres repeticiones, los valores medios etiquetados con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Todos estos datos nos indican que es posible obtener productos a base de la fermentación de avena y frijoles con *Pleurotus ostreatus*, más ricos en proteína de buena calidad biológica y alto valor nutricional que los granos nativos y que pueden ser utilizados como ingredientes funcionales en la elaboración y fortificación de alimentos para nutrición humana.

CONCLUSIONES

- El frijol bayo y frijol negro y avena en grano, fueron las leguminosas y cereales con mejor aporte nutricional y que además se adaptaron mejor al tratamiento de esterilización.
- El *Pleurotus ostreatus* tiene un efecto positivo en los frijoles y la avena; química, funcional y nutricionalmente al mejorar la calidad y digestibilidad de la proteína, disminuir antinutrientes, además de aumentar contenido de fenoles y su actividad antioxidante.
- Las formulaciones con mayor aporte proteico fueron FNP/AVG 60:50, FNP/AVG 50:50, FNP/AVG 40:60, FBP/AVG 60:50, FBP/AVG 50:50, FBP/AVG 40:60, FN/AVGP 60:50, FN/AVGP 50:50, FN/AVGP 40:60.
- Fue posible utilizar la harina obtenida de la fermentación como materia prima para la elaboración de alimentos funcionales y/o para la fortificación o enriquecimiento de los mismos.

PERSPECTIVAS

- Realizar análisis del efecto del *Pleurotus ostreatus* en otros indicadores de funcionalidad en las harinas fermentadas, almidón resistente, efectos hipoglucemiantes, hipocolesterolémicos, efectos en sangre en general, etc.
- Mejorar el alimento elaborado (tostada), buscando obtener mayor aceptabilidad del consumidor.
- Probar la inclusión de los ingredientes funcionales obtenidos (las harinas) en la elaboración y/o fortificación de otros alimentos y/o suplementos.
- Evaluar la disponibilidad y/o digestibilidad de las proteínas y nutrimentos de los alimentos elaborados con las harinas funcionales.
- Aplicar el tratamiento de fermentación con *Pleurotus ostreatus* en otros sustratos para la obtención de más ingredientes funcionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alam M., Bristi M., Rafiquzzaman M. 2012. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. xxx, xxx-xxx
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>

Alvídrez A., González B., Jiménez Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos Funcionales. Revista De Salud Pública y Nutrición. Vol 3 No.3 Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León (México). Disponible En: www.medigraphic.org.mx y respyn@uanl.mx

Armienta R., Milan J., Mora R., Ramírez B., Reyes C., Romero C. 2001. Fermentación en estado sólido (Fes) y descascarillado / suavización / extrusión (Dse): Alternativas Tecnológicas Para la Utilización de Garbanzo (Cicer Arietinum L). Instituto Politécnico Nacional, Universidad Autónoma De Sinaloa, Universidad De Sonora.

Aruguman S., Perumal S. 2012. Effect of indigenous processing methods on phenolics and antioxidant potential of Underutilized legumes Acacia auriculiformis and Parkia. Roxburgh

ii. J. Food Qual., 36, 99–112. doi 10.1111/jfq.12024

Association of Analytical Communities (AOAC). 2006. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed.; AOAC: Gaithersburg, MD, USA, ISBN 0935584773-9780935584776.

Astiasarán I., Martínez J. 2000. Alimentos Composición y Propiedades, 2nd ed.; McGraw Hill—Interamericana: Madrid, Spain, pp. 135–168, ISBN 84-486-0305-2.

Astuti M., Meliala A., Dalais F., Wahlqvist M. 2000. Tempeh, a Nutritious and Healthy food from Indonesia. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 9: 322-3.

Aw T., Swanson B., 1985. Influence of Tannin on *Phaseolus vulgaris* Protein Digestibility and Quality. *J. Food Sci.*, 50, 67–71. doi: 10.1111/j.1365-2621.1985.tb13279.x

Badui D. 2006 *Química de los Alimentos*, 4th ed.; Pearson Educación: Ciudad de México, Mexico, pp. 121–130, ISBN 970-26-0670-5.

Bautista M. 1997. Valor Nutricional de tres cepas mexicanas de *Pleurotus Ostreatus*, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, N.L. México

Bautista M., Alanís M., González E., García C. 1998. Composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*). *Archiv. Latinoam. Nutr.*, 48, 359–363.

Beetz, A., & Kustudia, M. 2004. Mushroom Cultivation and Marketing. *ATTRA Sustainable agriculture*, 1-24.

Beninger C., Hosfield G. 2003. Antioxidant Activity of Extracts, Condensed Tannin Fractions, and Pure Flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed Coat Color Genotypes. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 7879-7883. doi. 10.1021/jf0304324

Bermúdez R., Morris Q., Danoso F., Martínez M.C., Ramos S. 2003. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *Rev. Cubana. Investig. Bioméd.* 2003, 22, 226–231

Betoret E., Betoret N., Vidaland D., Fito P. 2011. Functional foods development: Trends and technologies. *Trends Food Sci. Technol.*, 22, 498–508. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.05.004>.

Blanco, A. 1983. Importance of some factors on digestibility of black beans (*Phaseolus vulgaris*) and of its amino acids in humans adults. Guatemala USAC/INCAP 1983, xi, 134.

Bonatti M., Karnopp P., Soares H., Furlan S. 2004. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry* 88 (2004) 425–428.

Bouayed J., Hoffmann L., Bhon T. 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.*, 128, 14–21. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.02.052

Boye J., Zare F., Alison P., 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International* 43, 414–431. doi:10.1016/j.foodres.2009.09.003

Buah E., Van del Puije G., Bediako E., Abole E., Showemimo F. 2010. The growth and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates. *Biotechnology* 9(3); 338-342.

Caballero B., Allen L., Prentice A. 2013. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 3rd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 366–371, ISBN 9780123848857

Cantoral R., Fernández-Quintela A., Martínez J., Macarulla M. 1995. Estudio comparativo de la composición y valor nutritivo de semillas y concentrados de proteína de leguminosas *Arch. Latinoam. Nutr.* 45: 242-248

Cardador M., Loarca P., Dave O. 2002. Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6975–6980. doi: 10.1021/jf020296n

Celis R., Peña C., Luna M., Aguirre J., Carballo A., Trejo C. 2008. Variabilidad morfológica seminal y del vigor inicial de germoplasma mejorado de frijol. *Agron Mesoam* 19, 2: 179-193

Certík M., Sláviková L., Masrnová S., Sjbidor J. 2006. Enhancement of Nutritional Value of Cereals with g-Linolenic Acid by Fungal Solid-State Fermentations. Food Technol. Biotechnol., 44, 75–82. <http://hrcak.srce.hr/109758>

Chau C., Cheung P. 1998. Functional properties of flours prepared from three Chinese indigenous legume seeds. Food Chemistry, Vol. 61, No. 4, pp. 429-433.

Cuevas E., Miián J., Mora R., Cardenas O., Reyes C. 2004. Quality Protein Maize (*Zea Mays* L.) Tempeh Flour Through Solid State Fermentation Process. Lebensmittel Wissenschaft Und Technologie Food Science And Technology. 37: 59-67.

Charalampopoulos D., Wang R., Pandiella S., Webb C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. International Journal of Food Microbiology 79 (2002) 131– 141.

Cramer J., Cruz A., Landi F., Hickson M., Zamboni M., Pereira S., Hustead D., Mustad V. 2016. Impacts of High-Protein Oral Nutritional Supplements Among Malnourished Men and Women with Sarcopenia: A Multicenter, Randomized, Double-Blinded, Controlled Trial. JAMDA 17, 1044-1055. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2016.08.009>

Davila M., Sangronis E., Granito M. 2003. Leguminosas germinadas o fermentadas: Alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. Archiv. Latinoam. Nutr., 53, 348–354.

Decker E., Devin R., Derek S. 2014. Processing of oats and the impact of processing operations on nutrition and health benefits. British Journal of Nutrition, 112, S58–S64 doi:10.1017/S000711451400227X

Del Pino V., Lajolo F. 2003. Efecto inhibitorio de los taninos del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la digestibilidad de la faseolina por dos sistemas multienzimáticos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 23(1): 49-53

Deshpande S., Sathe S., Salunkhe D. 1984. Interrelationships between certain physical and chemical properties of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Qual. Plant. Plant. Foods Hum. Nutr., 34, 53–65.

Devinder D., Mona M., Hradesh R., Patil R. 2012. Dietary fibre in foods: a review. J Food Sci Technol. 49(3):255–266. doi:10.1007/s13197-011-0365-5

Díaz A., Caldas G., Blair M. 2010. Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in commo bean seed coats. Food Res. Int., 43, 595–601. doi:10.1016/j.foodres.2009.07.014

Fabara C., Proaño A. 2011. Evaluación Nutricional de tempeh obtenido por fermentación de Fréjol (*Phaseolus Vulgaris* L.) y Quinoa (*Chenopodium Quinoa*) Con *Rhizopus Oligosporus*. Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería.

Fan L., Pandey A., Mohan R., Soccol C. 2000. Use of Various Coffee Industry Residues for the Cultivation of *Pleurotus ostreatus* in Solid State Fermentation. Eng. Life Sci., 20, 41–52.

FAO. Departamento Económico y Social, 2015. Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s08.htm>

FAO/WHO/UNU. 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO Tech. Rep. Ser. N. 935. Geneva, Switzerland.

FIRA 2001. El frijol en México, competitividad, oportunidades de desarrollo, boletín informativo, Num. 316 Fideicomisos instituidos en relación con la Agricultura

Fujihara S., Kasuga A., Aoyagi Y., Sugahara T. 1995. Nitrogen-to-protein conversion factors for some edible mushrooms. J. Food Sci. 60:1045-1047.

García O., Aiello C., Peña M., Ruíz, J., Acevedo I. 2012. Caracterización físico-química y propiedades funcionales de la harina obtenida de granos de. Revista Científica UDO Agrícola, 12 (4): 919-928.

Giardina P., Palmieri G., Fontanella B., Riviuccio V., Sannia G. 2000. Manganese Peroxidase Isoenzymes Produced by *Pleurotus ostreatus* Grown on Wood Sawdust. Arch. Biochem. Bioph., 376, 171–179. doi:10.1006/abbi.1999.1691

Gómez J., Cuervo J. 2016. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. Ciencias biomédicas Vol.6 (10)101-236 ISSN: 1794-2470.

Granato D., Branco G., Nazzaro F., Cruz A., Faria J. 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 9, 292-302.

Granito M., Guerra M., Torres A., Guinand J. 2004. Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de *Vigna sinensis*. Interciencia 29: 521-526

Granito M., Paolini M., Pérez S. 2008. Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* extreme conditions and processed. LWT Food Sci. Technol., 41, 994–999. doi: 10.1016/j.lwt.2007.07.014

Guzmán S., Acosta J., Alvarez M., Delgado S., Loarca G. 2002. Calidad alimentaria y potencial nutraceutico del frijol (*Phaseolous vulgaris L.*). Agric. Tec. Mex. Vol. 28 (2) 159-173.

Hachmeister K. y Fung D. 1993. Tempeh: A Mold-Modified Indigenous Fermented Food Made From Soybeans And/Or Cereal-Grains. *Critical Reviews In Microbiology*. 19: 137-188. Hasler C., Brown A., Association A. D. 2009. Position of the American Dietetic 46. doi: 10.1016/j.jada.2009.02.023

Hernández C., Gutiérrez G., Salcedo, S. 2008. Screening for decolorizing basidiomycetes in Mexico. Screening and Selección of Ligninolytic basidiomycetes with decolorizing ability in Northeast Mexico. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 24, 465–473. doi: 10.1007/s11274-007-9495-3

Herrera F., Betancur D., Segura M. 2014. Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutr. Hosp.*, 29, 10–20. doi: 10.3305/nh.2014.29.1.6990

Hölker U., Höfer M., Lenz. J. 2004. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl Microbiol Biotechnol* No. 64: 175–186 DOI 10.1007/s00253-003-1504-3.

Hu, J., Duvnjak Z. 2004. The production of a laccase and the decrease of the phenolic content in canola meal during the growth of the fungus *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation processes. *Eng. Life Sci.*, 4, 50–55.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) 2010. Estadísticas Históricas de México 2009. Recuperado el 16 de agosto de 2017, de: <http://www.beta.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825460792>.

Jayakumar T. Thomas P., Geraldine, P. 2009. In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 10, 228–234. doi:10.1016/j.ifset.2008.07.002

Kaur M., Singh N. 2005. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Food Chemistry, 91: 403–411.

Kües U., Liu Y. 2000. Fruting body production in basidiomycetes. Applied Microbiology and Biotechnology, 54(2), 141-152. <http://dx.doi.org/10.1007/s002530000396>.

Labaneiah M., Luh B. 1981. Changes of starch, crude fiber, and oligosaccharides in germinating dry beans. Cereal Chem. 58, 135–138.

Lamothe S. Corbeil M., Turgeon S., Britten M. 2012. Influence of cheese matrix on lipid digestion in a simulated gastro-intestinal environment. Food Funct., 3, 681–774. doi: 10.1039/c2fo10256k.

Li X., Pang Y., Zhang R. 2001. Compositional changes of cotton seed hull substrate during *P. ostreatus* growth and the effect on the feeding value of the spent substrate. Bioresource Technology 80:157-161.

Lobo V., Patil A., Phatak A., Chandra N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews, 4(8), 118–126. <http://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>

López A.L., Divo D., Pizzorno M., Villela F., Stella A. 2006. Utilización de extractos de Avena sativa L. en dermatitis. Rev. Argent. Dermatol., 87, 100–105.

López M., Kizlansky A., y López L. 2006. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el escore de aminoácidos corregido por digestibilidad Nutr Hosp. 2006; 21(1):47-51 ISSN 0212-1611

Luo Y., Xie W. 2012. Effect of different processing methods on certain antinutritional factors and protein digestibility in green and white faba bean (*Vicia. faba* L.). CyTA J. Food 2012, 11, 43–49.

Martínez D., Buglione M., Filippi M., Reynoso L., Rodríguez G., Agüero M. 2005. Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *Agrocybe aegerita* sobre orujos de pera. *An. Biol.*, 37, 1–10. doi: 10.6018/analesbio.37.1

Medina A., Kirwan R., Lamuela-Raventós R., Estruch R. 2016. Dietary patterns and the risk of obesity, type 2 diabetes mellitus, cardiovascular diseases, asthma, and neurodegenerative diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol. 0, 1–35 <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1158690>

Melo I., Ligarreto G. “2010 Contenido de taninos en el grano y características agronómicas en cultivares de frijol común “tipo reventón”. *Agronomía Colombiana* 28(2), 147-154.

Minekus M., Alming, M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D. 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—An international consensus. *Food Funct.* 5, 1113–1124. doi: 10.1039/c3fo60702j.

Mkandawire N., Weier S., Weller C., Jackson D, Rose D. 2015. Composition, in vitro digestibility, and sensory evaluation of extruded whole grain sorghum breakfast cereals. *LWT Food Sci. Technol.* 2015, 62, 662–667. doi: 10.1016/j.lwt.2014.12.051

Mollet B., Rowland I. 2002. Functional foods: At the frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(5):483-485. doi:10.1016/S0958-1669(02)00375-0

Mojica L., Chen K., González E. 2014. Impact of Commercial Precooking of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) on the Generation of Peptides, After Pepsin–Pancreatin Hydrolysis, Capable to Inhibit Dipeptidyl Peptidase-IV. *Journal of Food Science*, 80: H188–H198. doi: 10.1111/1750-3841.12726

Morales M., Peña C., García A., Aguilar G., Kohashi J. 2017. Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus. Vulgaris L.*) silvestre, domesticado y su progenie. *Agrociencia*, 51, 43–62.

Moure A., Sineiro J., Domínguez H., Parajo J. 2006. Functionality of oilseed protein products: A review. *Food Research International*, 39: 945–963.

Nguyen D., Mounir S., Allaf1 K. 2015. Functional Properties of Water Holding Capacity, Oil Holding Capacity, Wettability, and Sedimentation of Swell-Dried Soybean Powder. *Sch. J. Eng. Tech.*, 2015; 3(4B):402-412. ISSN 2321-435X (Online).

Nout M. y Rombouts F. 1990. Recent Developments in Tempe Research. *Journal Of Applied Bacteriology*. 69: 609-633. Papaspyridi L., Aligiannis N., Topakas E., Christakopoulos P., Skaltsounis A., Fokialakis N. 2012. Submerged Fermentation of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* in a Batch Stirred Tank Bioreactor as a Promising Alternative for the Effective Production of Bioactive Metabolites. *Molecules*, 17, 2714–2724. doi:10.3390/molecules17032714

Ötles S., Ozgoz S. 2014. Health effects of dietary fiber. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 13(2) 2014, 191-202

Pérez P, Esquivel R, Rosales J, Acosta G. 2002. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Arch. Latinoam. Nutr.* 52:172-180.

Peterson M. 2001. Oats Antioxidants. *J. Cereal Sci.*, 33, 115–129. doi:10.1006/jcrs.2000.0349

Phillips L., Whitehead D., Kinsella J., 1994. Structurefunction properties of food proteins. San Diego: Academic Press. 271p. (Food Science and Technology International Series).

Potter N. 1995. *Ciencia de los Alimentos*. Ed. ACRIBIA, SA. Zaragoza España.

Rabello C., Greenway F., Finley J. 2014. Etiology and Pathophysiology A review of the nutritional value of legumes and their effects on obesity and its related co-morbidities. *Etiology and Pathophysiology*. 15, 392–407. doi: 10.1111/obr.12144.

Ramírez A., Pacheco E. 2009. Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, vol. 34, núm. 4, pp. 293-298. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33911575012>

Raya J., Gutiérrez G., Ramírez J., Prieto J., Aguirre C. 2014. Caracterización de proteínas y contenido mineral de dos variedades nativas de frijol de México. *Agron. Mesoam.*, 25, 1–11. ISSN 1021-7444

Reyes, C.; Cuevas, E.; Milán, J.; Cárdenas, O.; Barrón, J. 2014. Solid state fermentation process for producing chickpea (*Cicer arietinum* L.) tempeh flour. Physicochemical and nutritional characteristics of the product. *J. Sci. Food Agric.* 84, 271–278. [CrossRef

Ribero D., Patto C., Pinto M. 2010. In vitro protein digestibility of enzymatically pre-treated bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour using commercial protease and *Bacillus* sp. protease. *Food Sci. Technol.*, 30, 94–99.

Romero J., Rodríguez M., Pérez R. 2000. *Pleurotus ostreatus*. Importancia y tecnología del cultivo. Grupo de Nutrición, Departamento de Física-Química, Facultad de Mecánica Universidad de Cienfuegos Carlos Rafael Rodríguez. Cuatro caminos. Ciudad de Cienfuegos. Cuba, 16

Rodríguez G., Gracia J., Rebollar S., Cruz C. 2010. Preferencias del consumidor de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México: factores y características que influyen en la decisión de compra diferenciada por tipo y variedad. *Paradigma económico* Núm. 1, 121-145

Rodrigues J., Albino S., Pereira D., Dias M., Soares J., Cuquetto H., Megumi M. 2013. Production of edible mushroom and degradation of antinutritional factors in jatropha biodiesel residues. Food Sci. Technol., 50, 575–580.

Rosales. S., Gallegos J., Muruaga J., Hernández J., Esquivel G., Pérez P. 2004. Variedades mejoradas de frijol del Instituto Nacional de investigadores forestales, Agrícolas y Pecuarias, Libro Técnico Num. 6. SAGARPA, INIFAP, CIRCE, Campo Experimental Valle de México. Chapingo estado de México.

Royse, D. 1997. Specialty mushrooms and their cultivation, Wn: Horticultural Reviewa. Volumen 19 Janick (Ed.) Hohn Wiley and Sons, Inc. pp. 59.97.

Sánchez, C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85, 1321–1337. doi: 10.1007/s00253-009-2343-7

Sathe S.K., Deshpande S. 2003. Encyclopedia of Food Science and Nutrition, 2nd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2003; pp. 403–412, ISBN 9780080917917.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON). 2013. Sistema de información agroalimentaria de consulta de producción frutícola. México, D. F. <http://www.siap.gob.mx>.

Sharma S.P., Yadav R., Pokhrel C. 2013. Growth and Yield of Oyster mushroom (*Pleurotus. ostreatus*) on different substrates. JNBR, 2, 3–8.

Sharma R., Aora D. 2015. Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect of improved nutritive quality. Crit. Rev. Microbiol. 2015, 1–9.

Shevkani K., Singh N., Kaur A., Chand A. 2014. Physicochemical, Pasting, and Functional Properties of Amaranth Seed Flours: Effects of Lipids Removal. Journal of Food Science. Vol. 79, Nr. 7, C1271- C1277. doi: 10.1111/1750-3841.12493.

Shuang-kui D., Hongxin J., Xiuzhu Y., Jay-lin J. 2013 Physicochemical and functional properties of whole legume flour LWT - Food Science and Technology xxx. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.001>

Shurtleff W. y Aoyagi A. 2001. The Book Of Tempeh. Ten Speed Press. Berkeley, California Pp. 22.SIACON-SAGARPA 2006. Superficie cosechada y producción de frijol anual en México. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Disponible en: <http://www.campomexicano.gob.mx/SIACON>

Simonato B., Pasini G., Giannattasio M., Peruffo A., De Lazzaril F., Curioni A. 2001. Food allergy to wheat products: The effect of bread baking and in vitro digestion on wheat allergenic proteins. A study with bread dough, crumb, and crust. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 5668–5673

Sinsabaugh R. 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. Soil Biol. Biochem., 42, 391–404. doi: 10.1016/j.soilbio.2009.10.014

Siró I., Kápolna E., Kápolna B., Lugasi A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review Appetite 51 (2008) 456–467. doi:10.1016/j.appet.2008.05.060

Starzynska-Janiszewska A., Stodolak B., Mickowska B. 2014. Effect of controlled lactic acid fermentation on selected bioactive and nutritional parameters of tempeh obtained from unhulled common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. J. Sci. Food Agric., 94, 359–366. doi: 10.1002/jsfa.6385

Stone H., Sidel J. 1993. Sensory Evaluation Practices, 2^a ed., Academic Press Inc.

Suárez M., Kizlansky A., López L. 2006. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el escore de aminoácidos corregido por digestibilidad. Nutr Hosp. 21(1):47-51. ISSN 0212-1611

Swanson B. y Artz W. 1988. Protein interactions with procyanidins. Interactions in protein systems. Berlin, Akademie-Verlag. p 115-127.

Taofi O., Heleno S., Calhella R., Alves M., Barros L., Barreiro M., González A., Ferreira I. 2016. Development of Mushroom-Based Cosmeceutical Formulations with Anti-Inflammatory, Anti-Tyrosinase, Antioxidant and Antibacterial Properties. Molecules, 21, 1372. doi:10.3390/molecules21101372

Tripathi J., Yadav J. 2015. Optimisation of solid substrate fermentation of wheat straw into animal feed by *Pleurotus ostreatus*: A pilot effort. Anim. Feed Sci. Technol., 662–667. doi:10.1016/0377-8401(92)90120-U

Ulloa J. A., Ulloa R. P., Ramirez R. J., Ulloa R.B. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. Revista Fuente Num.8, 5-9 ISSN: 2007

Unidad de Inteligencia de Negocios (UIN) 2012. Industria de alimentos procesados. ProMéxico. Primera edición. Ciudad de México. pag 7-9. Disponible: https://pesoehblog.files.wordpress.com/2015/11/alimentos_procesados_es.pdf

USDA. 2012. Agricultural Research Service, 2012. National Nutrient Database for Standard Reference 26. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>. †Does not include all of the resistant starch fraction

USDA. 2017. Agricultural Research Service; National Nutrient Database for Standard Reference. Available online: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> (accessed on 17 October 2017).

Vega A., Franco H. 2012. Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Inf. Tecnol.*, 24, 69–78. doi:10.4067/S0718-07642013000100009

Velasco O., San Martín E., Aguila M., Pajarito A., Escobedo R. 2013. Propiedades físicas y químicas del grano de diferentes variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bioagro* 25(3): 161-166.

Vergara H., Gandul B., Roca M. 2011. Formation of oxidised chlorophyll catabolites in olives. *J. Food Comp. Anal*, 24, 851–857. doi: 10.1016/j.jfca.2011.02.003

Wang D., Sakoda A., Suzuki M. 2001. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresour. Technol.*, 78, 293–300. doi:10.1016/S0960-8524(01)00002-5

Wang L., Yuyue L., Xiaoxian Y. 1990. Analysis of amino acid content of 30 varieties of edible fungi. *Mush. J. Tropics*. 10:74-78.

Wittig E. 2001. Evaluación Sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos.

http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/witting/e01/

Xu B., Chang, S. 2008. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *J. Food Sci.*, 73, H19–H27. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00625.x

Xu B.J., Yuan S.H., Chang S.K. 2007 Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *J. Food Sci.*, S167–S177. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x

Zhou M., Robards K., Glennie-Holmes M., Helliwell S. 1998. Structure and Pasting Properties of Oat Starch. *Cereal Chem.* 75(3):273–281.

Zieliński H., Kozłowska H. 2000. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Cereal Grains and Their Different Morphological Fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2008–2016. doi: 10.1021/jf990619o

ANEXOS

Anexo No. 1

Nombre: _____ Carrera: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Muestras: Tostadas

Instrucciones:

Evalúe las muestras que se le presentan.

- Para cada una, valore su impresión sobre el aspecto, el olor, el sabor, y la textura.
- Considere la escala como un continuo, de manera que puede hacer la marca de valoración en el lugar que desee.
- Tome agua entre cada muestra y no olvide indicar el código de la muestra en el apartado correspondiente.

MUESTRA N°: _____	
	No me gusta nada Me gusta mucho
ASPECTO	● ————— ●
OLOR	● ————— ●
SABOR	● ————— ●
TEXTURA	● ————— ●

Observaciones: _____

RESUMEN BIOGRÁFICO

Edith Espinosa Páez

**Candidato para el grado de
Doctor en Ciencias con Especialidad en Alimentos**

Tesis: OBTENCIÓN DE UNA HARINA FUNCIONAL RICA EN PROTEÍNAS DE BUENA CALIDAD BIOLÓGICA Y DE ALTO VALOR NUTRICIO A BASE DE CEREALES Y LEGUMINOSAS MEDIANTE FERMENTACIÓN CON *PLEUROTUS OSTREATUS*.

Campo de estudio: Alimentos




Datos personales: Nació en Monterrey N.L. el 5 de octubre de 1983. Hija de Guillermo Espinosa Solano y Bertha Lydia Páez Cantú.

Educación: Egresada de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Licenciada en Nutrición, generación 2000-2005.

Experiencia profesional: Nutrióloga en los Centros de Atención Médica Muguerza 2006-2009, Nutriologa en la clínica de obesidad Slim Center 2009, Responsable técnico en el Proyecto de Investigación Evaluación del Impacto nutricio de los Bancos de Alimentos de la AMBA, AC. 2006-2011, Secretaria técnica académica de la Facultad de Salud Pública Nutrición 2009-2012. Maestra de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la UANL desde el 2009.

Article

Increasing Antioxidant Activity and Protein Digestibility in *Phaseolus vulgaris* and *Avena sativa* by Fermentation with the *Pleurotus ostreatus* Fungus

Edith Espinosa-Páez ¹, Ma. Guadalupe Alanís-Guzmán ¹, Carlos E. Hernández-Luna ¹ ,
Juan G. Báez-González ^{1,*} , Carlos A. Amaya-Guerra ¹ and Ana M. Andrés-Grau ² 

¹ Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Universidad s/n, Cd. Universitaria, 66450 San Nicolás de los Garza, Mexico; edith.espinosapae@uanl.edu.mx (E.E.-P.); maria.alanisg@uanl.edu.mx (M.G.A.-G.); carlosehlme@yahoo.com (C.E.H.-L.); numisamaya@hotmail.com (C.A.A.-G.)

² Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain; aandres@tal.upv.es

* Correspondence: juan.baezgn@uanl.edu.mx or baezjuan@yahoo.com.mx; Tel.: +52-(81)-83294000 (ext. 3654)

Received: 7 November 2017; Accepted: 16 December 2017; Published: 20 December 2017

Abstract: The aim of the research was to determine the impact of fermentation with *Pleurotus ostreatus* on kidney beans, black beans, and oats. The results indicate that the fungus has a positive effect on the substrates when compared to the controls. The antioxidant activity (39.5% on kidney beans and 225% on oats in relation to the controls) and content of total polyphenols (kidney beans three times higher regarding the controls) increased significantly by the presence of the fungus mycelium, even after simulated digestion. There was a significant increase in protein digestibility (from 39.99 to 48.13% in black beans, 44.06 to 69.01% in kidney beans, and 63.25 to 70.01% in oats) and a decrease of antinutrient tannins (from 65.21 to 22.07 mg in black beans, 35.54 to 23.37 in kidney beans, and 55.67 to 28.11 in oats) as well as an increase in the contents of some essential amino acids. Overall, this fermentation treatment with *Pleurotus ostreatus* improved the nutritional quality of cereals and legumes, making them potential ingredients for the elaboration and/or fortification of foods for human nutrition.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*; antioxidant activity; polyphenols; digestibility; fermentation; cereals; legumes

1. Introduction

Foods today are intended not only to satisfy hunger and provide the necessary nutrients for humans but also to prevent nutrition-related diseases that impact physical and mental wellness [1]. Functional foods have been introduced in markets, and they are usually defined as “modified foods which contain ingredients that have demonstrated actions that increase the welfare of the individual or decrease disease risk beyond the traditional role” [2]. The legume, a particularly common bean (*Phaseolus vulgaris*), is one of the main sources of vegetable protein available in developing countries [2]. The high lysine content protein of *Phaseolus vulgaris* makes it an ideal cereal protein; it supplements the deficiency in this essential amino acid and is also a staple ingredient in developing countries, where the availability of animal protein is low. Also, it provides adequate nutrition due to its contribution of carbohydrates [3] and high-quality protein. *Phaseolus vulgaris* has also been associated with various health benefits, including the reduced risk of diabetes and cardiovascular disease attributed to the presence of polyphenols [4,5]. *Phaseolus vulgaris*, however, contains antinutritional factors such as protein inhibitors (inhibitors of trypsin, chymotrypsin, and amylase), lectins, phytates, and tannins [6].

The common oat (*Avena sativa*) is among the major cereals used for human food [7]; it is the cereal with the highest percentage of vegetable fat and has a variety of minerals, trace elements and vitamins such as calcium, copper, iron, magnesium, potassium, selenium, zinc and vitamins: B1, B2, B3, B6 and E, and trace amounts of vitamin D [8].

The disadvantage of using legumes in food fortification is the presence of antinutrients such as phytates, tannins, and trypsin inhibitors, which decrease the digestibility of the protein [7].

Fungi are considered a source of food with incalculable value for their nutritional quality, being low in calories and rich in carbohydrates, essential amino acids, fiber, vitamins and minerals [9,10]. Studies indicate that *Pleurotus* species are potent biological agents that convert non-food organic products into palatable human food [11]. They are able to synthesize a greater proportion of essential amino acids, which promotes a positive balance of amino acids, as well as improving the taste. They can grow on a variety of substrates, such as straw (wheat, oats, and rice), sawdust, cotton waste, banana leaves, corn stalks, and other agricultural wastes [12].

Pleurotus ostreatus is the second most cultivated edible mushroom worldwide after *Agaricus bisporus*; it has a high nutritional value as it contains minerals, vitamins, and proteins. While it has a low content of fat and sodium, it is high in potassium [10]. This fungus also has antioxidant properties [13,14].

The production of fermented foods is one of the oldest food processing technologies, [15] and it is an economic and simple process that causes chemical changes and modifies the functionality of foods [16]. Many of these foods are manufactured for their unique flavor, aroma, and texture attributes that are highly appreciated by the consumer. Furthermore, filamentous fungi simultaneously decrease anti-nutrients components and partially hydrolyzed biopolymers substrates. The byproduct of the fermentation can be used as an inexpensive food and as a supplement to support marketing demands [15]. Considering the above and the growing industry of ingredients and functional foods, the aim of this research was to evaluate the effect of fermentation with *Pleurotus ostreatus* on protein digestibility, antioxidant activity, and nutritional quality of cereals (oats) and legumes (black and kidney beans).

2. Results and Discussion

The obtained amount of flour, including mycelium produced during fermentation with *Pleurotus ostreatus*, is equivalent to the grams of substrate used in dry weight (BB, KB, OG), so there is only one bioconversion of the substrate to mycelium.

2.1. Proximal Chemical Analysis

The results of the chemical composition of dry matter corresponding to the non-fermented varieties of black beans, kidney beans and oats (BB, KB, OG) and fermented ones with *Pleurotus ostreatus* (FBB, FKB, FOG) are shown in Table 1. The effect of fermentation with a significant increase of 13% and 6% in kidney beans and oats protein, respectively, can be observed. This is attributed to the increase of amino acid synthesis as a consequence of the fermentation with *Pleurotus ostreatus* [12]. With respect to the dietary fiber content, values obtained for the legumes were as follows: 45.09 g (BB), 27.80 g (KB) and 13.48 g (OG), which are greater than those reported by the USDA, which are 5.5 g for raw black beans, 8.7 g for cooked black beans, 4.9 g for raw kidney beans, 9.3 g for cooked kidney beans, and 10.6 g for raw oats and 2.6 g for cooked oats [17]. In the fermented black beans and oats, the dietary fiber contents significantly decreased by 59% and 22% respectively, attributable to the action of the enzymes from *Pleurotus ostreatus* such as cellulase, hemicellulase, xylanases and laccases [18], which selectively use the lignin and cellulose for their growth; lignin and cellulose form the major composite of the dietary fiber in legumes and cereals. The decrease in these structural carbohydrates allows the transformation of resistant starch into available starch, which in the case of black beans is a cause of the high observed value of dietary fiber (48.73%). In contrast to FKB, the fiber significantly increased 16%. These differences could be explained, as the action of the fungus depends on the substrate, species, or the variety of substrate being used; the fungus adjusts its enzymatic systems

(hydrolase enzymes, oxide reductases, etc.) in relation to the conditions of the substrate, mainly the presence of carbon and nitrogen, selective delignification, crude protein content, dry matter and the threshold availability of the substrate in the grain for the growth of the fungus after inoculation [19]. The way in which enzymes of the fungus act to obtain the nutrients necessary for growth depends on the substrate; in the case of FB, it has a higher hardness index [20], having less permeability so the fungus could not act the same way as in the black beans, which could explain the differences in the composition [21]. This hypothesis is confirmed by data shown in Table 2; in the case of unfermented and fermented kidney beans, they do not show an increase in the total polyphenol content and antioxidant activity. The fat content highlights a significant increase of 97% in the FOG regarding OG treatment, which may have been provided by the fungus fat, since a 4.8% value of this component in *Pleurotus ostreatus* was reported [22]; this also happened to the legumes, assuming that the fungus is found in a greater proportion in oats, due to the fact that cereals such as grains of beer, wheat, rice, oats, and corn are more accessible substrates for the fungus, thus growing easier on them [23], as observed with other species of this fungus such as *Pleurotus pulmonaris*, which report a 3% value of this component [18]. It is important to consider that increases in some nutrients may be a response to the percentage decrease in others.

Table 1. Nutritional components of different obtained flours.

Parameter (%)	BB	FBB	KB	FKB	OG	FOG
Protein	23.62 ± 1.12 ^a	22.80 ± 2.85 ^a	22.81 ± 1.3 ^a	25.78 ± 2.35 ^d	11.78 ± 1.28 ^a	12.56 ± 0.63 ^b
Fat	2.08 ± 0.32 ^{bc}	1.67 ± 0.34 ^{abc}	1.86 ± 0.66 ^{ab}	1.68 ± 0.17 ^a	2.44 ± 0.45 ^c	4.80 ± 0.60 ^d
Minerals	4.90 ± 0.15 ^a	4.58 ± 0.31 ^a	4.63 ± 0.24 ^a	4.02 ± 0.01 ^a	1.61 ± 0.09 ^b	0.83 ± 0.52 ^a
Fiber	48.73 ± 0.56 ^d	30.0 ± 0.51 ^a	29.18 ± 0.15 ^d	33.88 ± 0.28 ^a	14.00 ± 0.07 ^b	10.92 ± 0.70 ^a
Carbohydrates	20.69 ± 0.79 ^a	50.95 ± 0.96 ^d	41.52 ± 0.59 ^c	34.64 ± 1.5 ^b	70.17 ± 0.44 ^a	70.89 ± 0.66 ^c

Black beans (BB); Black beans with *Pleurotus ostreatus* (FBB); kidney beans (KB); kidney beans with *Pleurotus ostreatus* (FKB); oats (OG) and oats with *Pleurotus ostreatus* (FOG). Average values with three replicates ± standard deviations, of three different lots. Mean values labeled with a different letter in the same file are significantly different ($p < 0.05$).

Table 2. Effect of *Pleurotus ostreatus* on antioxidant activity and total phenol content in different flours.

Flour	FOLIN (mg Acid Gallic/g Flour)			DPPH (mg Trolox/g Flour)		
	Initial	G.D. *	I.D. **	Initial	G.D.	I.D.
BB	1.48 ± 0.01 ^b	1.94 ± 0.05 ^a	3.30 ± 0.06 ^a	1.24 ± 0.04 ^b	2.89 ± 0.53 ^b	8.97 ± 0.73 ^d
FBB	1.87 ± 0.24 ^b	2.10 ± 0.00 ^d	6.85 ± 0.03 ^c	1.73 ± 0.09 ^c	3.90 ± 2.21 ^d	13.31 ± 1.63 ^f
KB	1.59 ± 0.10 ^b	1.82 ± 0.02 ^{ab}	4.23 ± 0.09 ^a	1.2 ± 0.01 ^b	2.42 ± 0.51 ^a	7.2 ± 0.29 ^c
FKB	1.59 ± 0.01 ^b	1.77 ± 0.06 ^a	4.78 ± 0.20 ^b	1.2 ± 0.08 ^b	3.24 ± 0.04 ^c	9.39 ± 0.01 ^a
OG	0.85 ± 0.76 ^a	1.88 ± 0.02 ^b	2.72 ± 0.49 ^a	0.40 ± 0.03 ^a	2.37 ± 0.77 ^a	3.04 ± 0.31 ^a
FOG	2.89 ± 0.34 ^c	2.12 ± 0.08 ^d	4.91 ± 0.06 ^b	1.30 ± 0.08 ^b	2.85 ± 0.37 ^b	5.04 ± 0.25 ^b

* Gastric digestion; ** Intestinal digestion. Black bean (BB); black bean with *Pleurotus ostreatus* (FBB); kidney beans (KB); kidney bean with *Pleurotus ostreatus* (FKB); oats (OG) and oats with *Pleurotus ostreatus* (FOG). Values are the average of three replicates ± standard deviations, of three different lots. Mean values labeled with a different letter in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

2.2. Antioxidant Activity and Total Phenols

The content of total phenolic and antioxidant activity in flours was assessed before and after simulated gastric and intestinal digestion. The presence of total phenols in legumes and cereals has been documented in previous studies [5]. The initial content of phenols for the different treatments (Table 2) was 0.85 to 2.89 mg of gallic acid/g of flour, while Zielin'ski and Kozłowska [24] obtained 2.89 mg/g for FOG as the highest. Treatments of black beans and oats with *Pleurotus ostreatus* had a significant increase in the total phenol contents, i.e., 26.35% on BB and 240% in relation to the OG. This fungus is basidiomycete, which excreted at least three different oxidases of phenol; these are used to degrade lignin and obtain carbon and other nutrients. These laccases (phenol oxidases) are independent agents that catalyze reactions, including the oxidation of Mn^{+2} and Fe^{+2} , that can polymerize, depolymerize or transform a wide range of phenolic compounds [25].

This increase may be due not only to the synthesis of phenols in the mycelium or hydrolysis of conjugated phenolics [26], but also to the deamination of aromatic amino acids phenylalanine and tyrosine precursor of phenolic acids [27]; in addition, the phenol oxidases of the fungus also produced interesting industrial bioconversions of many aromatic xenobiotic compounds from lignin [28]. The antioxidant activity in the treatments was 1.2 to 1.73 mg Trolox equivalent/g in legume flours—higher than the values obtained for oats 0.40 mg/g OG and 1.30 mg/g FOG; this variation between oat and bean flours may be due simply to the different types of antioxidant compounds that they contain, as well as to their concentration [29,30]. In relation to the effect of the fungus in the flour, the fermented black bean and oat treatments significantly increased antioxidant activity; FBB presented an increase of 39.5% on BB and FOG 225% in relation to the OG, attributing it to the fungus in these treatments. There was a significant increase of polyphenols due to depolymerization or hydrolysis of conjugated polyphenols, not occurring in FKB, in which there was no antioxidant activity increase; assuming that the threshold availability of the compounds is not the same due the fact that the kidney bean hull is harder [20] because it has a higher cellulose content than the black bean hull [31]. The fungus degrades lignin molecules by the action of ligninolytic enzymes (lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase) and can then access energy-rich polysaccharides for growth and metabolism [32]. In this case, the phenol oxidase enzymes could not act in the same way, degrading conjugated phenolic compounds by not having enough access to them [33]. The varieties of beans have different characteristics. Depending on the natural adaptation to the environment and the harder seed coat (hull), the permeability and the possibility of access of microorganisms decrease, so the hull protects the endosperm from microbial attacks, assuming greater resistance to the action of the fungus [21]. After digestion, the antioxidant activity increased both in non-fermented flour and fermented flour, reaching values of Trolox 3.04 to 8.97 mg/g and 5.04 to 13.31 mg/g, respectively. This presented a seven-fold increase in FBB.

Concerning the activities of the total phenolic content in simulated digestion, it was observed that at the end of the digestion, values ranged from 2.72 to 4.23 mg/g in non-fermented and from 4.91 to 6.85 mg/g in fermented flours with the fungus, increasing three-fold in FBB. This increase was the tendency in all treatments. This is contrary to the results published by other authors [34], reporting that the content of total phenolic and antioxidant activity tended to decrease after digestion, due to the low pH fluids during gastric digestion and the interaction with other compounds such as minerals, fiber, and protein in foods, affecting the solubility and availability of polyphenols. However, it is well known that anthocyanins (antioxidant compounds present in many legumes), resist low pH and protect themselves; this probably explains the tendency observed in our results. In addition, we attribute it to the action of the enzymes of the fungus in the fiber, leaving it more available or accessible to antioxidants. This is very important since antioxidants play a protective role in the gastrointestinal tract while keeping the redox balance against harmful antioxidant agents, helping the prevention of gastrointestinal diseases during the process of digestion [34].

2.3. In Vitro Digestibility, Soluble Nitrogen and Tannins

In vitro digestibility values obtained for non-fermented bean flours shown in Table 3, were BB 39.99% and KB 44.06%. These were higher than those reported previously [35], which reported values below 35% in *Phaseolus vulgaris* in raw and pre-cooked flours. Fermented black beans with the fungus (FBB) presented a digestibility of 48.13%, which is similar to values reported for black beans fermented with *Bacillus* sp. [36]. The kidney bean with *Pleurotus ostreatus* (FKB) had a higher digestibility with 69%, and is higher than other reports [35], which have values below 50% for raw and cooked carica beans. Similarly, both treatments of fermented beans (FBB and FKB) had a higher digestibility than those reported for beans fermented with other microorganisms, such as *Rhizopus microsporus* var., *Chinensis* and *Lactobacillus plantarum* 33.87 and 35.09%, respectively [37]. The digestibility values for OG and FOG flours were 63.25% and 70% respectively, being similar to those reported by other authors [38]. The protein digestibility increased significantly in all fermented with *Pleurotus ostreatus*

because this fungus has a great selectivity of delignification, which degrades the substrate and makes proteins more digestible [39].

Table 3. Protein digestibility, soluble nitrogen and tannin content.

Flour	Protein Digestibility (%)	Soluble Nitrogen (%)	Tannin Content (mg/100 g)
BB	39.99 ± 1.71 ^a	0.60 ± 0.80 ^b	65.21 ± 0.027 ^f
FBB	48.13 ± 0.78 ^c	1.34 ± 2.3 ^d	22.07 ± 0.016 ^a
KB	44.06 ± 1.71 ^b	0.30 ± 1.0 ^a	35.54 ± 0.086 ^d
FKB	69.01 ± 1.14 ^{de}	0.60 ± 1.5 ^b	23.37 ± 0.017 ^b
OG	63.25 ± 1.65 ^d	0.61 ± 0.4 ^b	55.67 ± 0.057 ^e
FOG	70.01 ± 0.30 ^e	0.91 ± 0.22 ^c	28.11 ± 0.030 ^c

Black bean (BB); black bean with *Pleurotus ostreatus* (FBB); kidney beans (KB); kidney bean with *Pleurotus ostreatus* (FKB); oats (OG) and oats with *Pleurotus ostreatus* (FOG). Values are the average of three replicates ± standard deviations, of three different lots. Mean values labeled with a different letter in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Soluble nitrogen values presented a significant difference between fermented and non-fermented treatments with *Pleurotus ostreatus*, confirming the effect of *Pleurotus ostreatus* on the availability of the protein (Table 3). In addition, the ability of the fungus to reduce tannins favored the increase in protein digestibility [40]. Tannin contents presented in Table 3 show a significant decrease in all fermented products with 66% for FBB, 34% for FKB and 49% for FOG. Fan et al. [41] reported that the fungus is able to reduce or eliminate tannin antinutrients mainly by the action of a tannase present in the fungus, which ultimately destroys the tannins [42]. The tannin values of non-fermented beans samples were similar to those previously reported [43]. The decrease in the concentration of tannins has been reported in the lactic fermentation of *Phaseolus vulgaris* [27].

2.4. Amino Acid Profile

The results of the amino acid profiles are shown in Table 4. It is observed that in oats, as well as in fermented legumes, a significant increase of most of the essential amino acids (isoleucine, leucine, phenylalanine, valine, threonine, and methionine) is present, confirming the effect of *Pleurotus ostreatus* in the synthesis of essential amino acids [12]. This also highlights a significant increase in sulfur amino acids such as methionine and cysteine with values of 22.4 mg/g of protein and 49.19 mg/g of protein in fermented treatments of kidney beans and oats respectively; this is considered relevant to improve the quality of the protein in the flour. Basic amino acids such as lysine and arginine decreased in all treatments in the fermentation process with the fungus. These amino acids were probably destabilized by the acidic conditions associated with the fermentation since the process was maintained at pH < 4 [44,45]. The values of these amino acids in the fermented products are similar to those reported for *Pleurotus ostreatus* [12].

Table 4. Effect of *Pleurotus ostreatus* on the amino acid profile.

Amino Acid (mg/g Protein)	Flours					
	BB	FBB	KB	FKB	OG	FOG
Asparagine	125.29 ^a	124.22 ^c	125.40 ^a	124.88 ^d	87.30 ^a	88.33 ^b
Threonine	46.11 ^c	47.30 ^d	49.51 ^a	49.56 ^a	37.04 ^a	39.17 ^b
Serine	53.10 ^d	51.60 ^c	53.68 ^a	52.96 ^d	46.74 ^b	45.00 ^a
Glutamine	157.89 ^c	154.80 ^b	153.63 ^a	154.52 ^b	217.81 ^a	212.50 ^d
Proline	46.58 ^b	48.73 ^c	34.71 ^a	49.08 ^d	60.85 ^a	61.67 ^f
Glycine	41.92 ^a	43.00 ^b	44.89 ^c	43.25 ^b	54.67 ^d	56.67 ^e
Alanine	42.85 ^a	45.87 ^d	44.89 ^b	45.19 ^c	50.26 ^a	53.33 ^f
Valine	59.62 ^b	64.50 ^f	60.62 ^c	63.65 ^a	57.32 ^a	61.67 ^d
Methionine + Cysteine	20.44 ^a	22.45 ^c	21.29 ^a	21.87 ^b	47.62 ^d	49.19 ^d
Isoleucine	49.84 ^c	51.03 ^d	49.98 ^c	52.96 ^d	41.45 ^a	45.83 ^b

Table 4. Cont.

Amino Acid (mg/g Protein)	Flours					
	BB	FBB	KB	FKB	OG	FOG
Leucine	87.10 ^d	88.87 ^a	86.07 ^c	89.89 ^f	82.01 ^a	84.17 ^b
Tyrosine	30.74 ^c	32.97 ^a	32.39 ^d	33.04 ^a	27.34 ^a	28.33 ^b
Phenylalanine	61.95 ^d	63.07 ^a	60.62 ^c	63.65 ^f	56.44 ^a	57.50 ^b
Hydroxyphenylsine	1.40 ^a	3.34 ^d	1.39 ^a	1.94 ^b	2.65 ^c	3.33 ^d
Cornithine	0.47 ^a	0.96 ^d	0.93 ^c	0.97 ^d	0.88 ^b	1.67 ^e
Lysine	68.93 ^d	52.56 ^b	68.49 ^d	56.37 ^c	47.62 ^b	34.17 ^a
Histidine	28.88 ^f	25.80 ^d	28.69 ^a	25.27 ^c	22.93 ^b	20.83 ^a
Arginine	57.29 ^c	49.21 ^a	60.62 ^d	51.02 ^b	47.02 ^a	60.83 ^d
Tryptophan	10.71 ^c	10.51 ^b	11.11 ^d	11.18 ^d	14.99 ^e	10.00 ^a

Black bean (BB); black bean with *Pleurotus ostreatus* (FBB); kidney beans (KB); kidney bean with *Pleurotus ostreatus* (FKB); oats (OG) and oats with *Pleurotus ostreatus* (FOG). Mean values labeled with a different letter in the same file are significantly different ($p < 0.05$).

3. Materials and Methods

3.1. Seeds, Microorganism and Maintenance

The black beans (BB), kidney beans (KB) and oats grain (OG) were obtained from the local food market in Gpe, N. L. Mexico. *Pleurotus ostreatus* CS155 strain was obtained from Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolas de los Garza, N.L., Mexico. This strain was maintained by periodic transfers (2–3 months) in Petri dishes with growth medium prepared with 0.4% yeast extract, 0.1% malt extract, 0.4% glucose and 1.5% agar (YMGA) [46].

3.2. Inoculum Production

Seeds of fresh black beans, kidney beans and oats were obtained from local suppliers; they were washed and sterilized in mason jars with autoclave 121 °C for 45 min and water rational of 1:1, 1:1.10, and 1:1.35 (*w/w*), respectively. The strain fungus was inoculated in a YMG medium (0.44% yeast extract, 0.1% malt extract and 0.4% glucose) and incubated under agitation (150 rpm) for two weeks at room temperature, based on the studies by Hernandez, et al., 2008 and Gan, et al., 2017 [46,47]. The culture was homogenized during four periods of 15 s and used as inoculum. Then, 8 mL of the homogenized culture that contains 2.64 mg of biomass [d.w.] per gram of the homogenized culture [48] was added to each pre-treated jar for solid fermentation, looking for the inoculum to cover the whole sample while affecting the ratio of nutrients as little as possible. Afterwards, looking for sufficient biomass, the jars with the inoculated substrates were incubated for 2 weeks at room temperature under agitated anaerobic conditions. Subsequently, at the beginning of the idiophase, the highest ratio of biomass to the volume of medium nutrient-limited liquid was obtained, according to preliminary tests performed in our laboratory, where we observed that in a period of two weeks, the seeds were 100% colonized. The grains with mycelium were ground (Moulinex, Écully, France) and dehydrated in a convection furnace at 70 °C. Flours obtained with fermented and unfermented grains were labeled as black bean (BB); black bean with *Pleurotus ostreatus* (FBB); kidney beans (KB); kidney bean with *Pleurotus ostreatus* (FKB); oats (OG) and oats with *Pleurotus ostreatus* (FOG) [46].

3.3. Proximal Chemical Analysis

All proximal analyses were performed using standard methods of Association of Official Analytical Chemistry [49]. Protein content was determined with the Kjeldahl method (AOAC 930.29). Fat content was measured using the Goldfish method (AOAC 920.36C). Ash content was evaluated gravimetrically (AOAC 14.006), and dietary fiber and available carbohydrates were measured with the gravimetric-enzymatic (AOAC 985.29) and chemical (AOAC 962.09) methods, respectively.

3.4. Simulated *In Vitro* Digestion

A protocol based on the use of digestive enzymes was followed [50] and simulated fluids were prepared according to the protocol proposed by Minekus et al. (2014) [51]. Portions of 5 g of each sample were placed into a 50-mL tube. For the oral phase, 5 mL of POS (simulated oral fluid) was added, incubated for 5 min at 37 °C in agitation. Then, 12 mL of PGS (simulated gastric fluid) with pepsin at pH 2.3 was added following incubation for 2 h at 37 °C in 55 rpm orbital agitation for the gastric phase. Finally, 20 mL FIS (simulated intestinal fluid) with 1.98 mg of pancreatin and bile extract at pH 8 was added and incubated for 2 h at 37 °C on orbital agitation for the intestinal phase.

3.5. Antioxidant Activity

Antioxidant activity was measured in samples before and after *in vitro* digestion. For undigested samples, the determination was made with extractions, using methanol 80% 1:5 (*v/v*) for each sample. The determinations of the extractions after gastric and intestinal digestion were performed with methanol 80% 1:20 (*v/v*) from 4 mL of the product of the gastric phase and 8 mL of the product of the intestinal phase. Of each extraction, 0.1 mL was mixed with 3.9 mL of DPPH (1 N), incubated for 30 min in darkness and measured at 515 nm absorbance. The results were expressed in the mg equivalent of Trolox [52].

3.6. Total Phenol Content

Total phenol content was determined in all samples before and after *in vitro* digestion. All the sample extractions were made with methanol 80% 1:5 (*v/v*) for undigested samples. For determination after gastric and intestinal digestion, extractions were performed with methanol 80% 1:20 (*v/v*) from 4 mL of the product of the gastric phase and 8 mL of the product of the intestinal phase. A 1 mL of extract was mixed with 0.025 mL of Folin-Ciocalteu (1 N), 2.5 mL of sodium carbonate (20%), incubated for 40 min in darkness, and then measured at 725 nm absorbance. The results were expressed as equivalents of gallic acid [52].

3.7. Protein Digestibility

A simulated digestion was performed and 37 mL of intestinal phase product was obtained; protein not digested was precipitated with trichloroacetic acid (TCA) and was prepared to a final concentration of 12% (*w/w*). It was centrifuged at 3500 rpm for 15 min and was then decanted. The precipitate was washed and centrifuged twice, and its nitrogen content was determined by the Kjeldahl [51,53].

3.8. Soluble Nitrogen

For soluble nitrogen, a 0.15-g sample was placed into a 50-mL tube, to which 49.5 mL of NaOH 0.02 N was added; it was then stirred for 1 h and centrifuged for 5 min at 3000 rpm. The content of nitrogen in the supernatant was determined by micro-Kjeldahl [54].

3.9. Tannins Content

Tannin content was measured using the AOAC 952.03 method (AOAC 1990). The standard curve was prepared with 100, 200, 400, 600 and 800 aliquots in 1000 µL of a tannic acid stock solution of 0.1 mg/mL. Each 10 mg sample was dissolved in 10 mL of water and 1 mL was taken to make the determinations. We then added 7.5 mL of water, 500 µL of Folin-Denis and 1 mL of Na₂CO₃ at 35%; 10 mL was taken and stirred. After 30 min, a spectrophotometer at 760 nm absorbance was used to measure results. The results are expressed as equivalents of tannic acid [49].

3.10. Amino Acids Profile

The amino acid profile was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC), gas-liquid chromatography (GLC) and mass spectrometry (MS), according to the method AOAC 982.30 E (a,b,c) [49].

3.11. Statistical Analysis

Data from the three replicated experiments were analyzed to determine whether the variances were statistically homogeneous, and the results expressed as means \pm SD. Statistical comparisons were made by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a Duncan's test using SPSS 17 Software. Difference between means were considered significant at $p < 0.05$.

4. Conclusions

Pleurotus ostreatus has a positive effect on the two varieties of beans and oats, increasing the content of polyphenols and their antioxidant activity even during digestion, thus improving the digestibility of the protein and decreasing tannins. The impact on the content of amino acids shows an increase of sulfur amino acids promoted by the fermentation of legumes and cereal, increasing the potential of these flours as functional ingredients in the production of food for human nutrition.

Acknowledgments: We would like to thank Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for financially supporting E.E.-P to obtain her Ph.D. (scholarship 446871). We would also like to thank David Lazzano for the revision of this manuscript.

Author Contributions: E.E.-P conceived the experiments; M.G.A.-G, C.E.H.-L, J.G.B.-G, C.A.A.-G. and A.M.A.-G. performed the experiments, analyzed the data and contributed to reagents/materials/analysis tools; E.E.-P. wrote the paper. All authors read and approved the final version of this document.

Conflicts of Interest: No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

1. Betonnet, E.; Betonnet, N.; Vidaland, D.; Fito, P. Functional foods development: Trends and technologies. *Trends Food Sci. Technol.* **2011**, *22*, 498–508. [[CrossRef](#)]
2. Caballero, B.; Allen, L.; Prentice, A. *Encyclopedia of Human Nutrition*, 3rd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2013; pp. 366–371, ISBN 9780123848857.
3. Sathie, S.K.; Deshpande, S.S. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, 2nd ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2003; pp. 403–412, ISBN 9780080917917.
4. Herrera, E.; Betancur, D.; Segura, M.R. Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutr. Hosp.* **2014**, *29*, 10–20.
5. Xu, B.J.; Yuan, S.H.; Chang, S.K. Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity, and color of cool season legumes and other selected food legumes. *J. Food Sci.* **2007**, *S167–S177*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Luo, Y.W.; Xie, W.H. Effect of different processing methods on certain antinutritional factors and protein digestibility in green and white faba bean (*Vicia faba* L.). *CytTA J. Food* **2012**, *11*, 43–49. [[CrossRef](#)]
7. Astiasarán, I.; Martínez, J.A. *Alimentos Composición y Propiedades*, 2nd ed.; McGraw Hill—Interamericana: Madrid, Spain, 2000; pp. 135–168, ISBN 84-486-0305-2.
8. López, A.L.; Divo, D.; Pizzorno, M.; Vilhela, E.; Stella, A.M. Utilización de extractos de *Avena sativa* L. en dermatitis. *Rev. Argent. Dermatol.* **2006**, *87*, 100–105.
9. Sharma, S.P.; Yadav, R.K.; Pokharel, C.P. Growth and Yield of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates. *JNBR* **2013**, *2*, 3–8.
10. Sánchez, C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2010**, *85*, 1321–1337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. Bermúdez, R.C.; Morris, Q.H.; Danoso, E.C.; Martínez, M.C.; Ramos, S.E. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *Rev. Cubana. Invest. Bioméd.* **2003**, *22*, 226–231.
12. Bautista, M.; Alario, M.; González, E.; García, C. Composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*). *Archiv. Latinoam. Nutr.* **1998**, *48*, 359–363.
13. Taafi, O.; Heleno, S.; Calheta, R.; Alves, M.; Barros, L.; Barreiro, M.; González, A.; Ferreira, I. Development of Mushroom-Based Cosmeceutical Formulations with Anti-Inflammatory, Anti-Tyrosinase, Antioxidant, and Antibacterial Properties. *Molecules* **2016**, *21*, 1372. [CrossRef] [PubMed]
14. Jayakumar, T.; Thomas, P.; Geraldine, P. In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Intern. Food Sci. Emerg. Technol.* **2009**, *10*, 228–234. [CrossRef]
15. Certik, M.; Sláviková, L.; Masenová, S.; Špidar, J. Enhancement of Nutritional Value of Cereals with γ -Linolenic Acid by Fungal Solid-State Fermentations. *Food Technol. Biotechnol.* **2006**, *44*, 75–82.
16. Davila, M.A.; Sangronis, E.; Granito, M. Leguminosas germinadas o fermentadas: Alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Archiv. Latinoam. Nutr.* **2003**, *53*, 348–354.
17. USDA. Agricultural Research Service; National Nutrient Database for Standard Reference. Available online: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list> (accessed on 17 October 2017).
18. Vega, A.; Franco, H. Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Inf. Tecnol.* **2012**, *24*, 69–78. [CrossRef]
19. Raya, J.; Gutiérrez, G.; Ramírez, J.; Prieto, J.; Aguirre, C. Caracterización de proteínas y contenido mineral de dos variedades nativas de frijol de México. *Agrociencia* **2014**, *25*, 1–11. [CrossRef]
20. Deshpande, S.; Sathe, S.; Salunkhe, D. Interrelationships between certain physical and chemical properties of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Qual. Plant. Plant. Foods Hum. Nutr.* **1984**, *34*, 53–65. [CrossRef]
21. Morales, M.; Peña, C.; García, A.; Aguilar, G.; Kohashi, J. Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, domesticado y su progenie. *Agrociencia* **2017**, *51*, 43–62.
22. Papaspyridi, L.; Aligiannis, N.; Topakas, E.; Christakopoulos, P.; Skaltsounis, A.; Fokialakis, N. Submerged Fermentation of the Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* in a Batch Stirred Tank Bioreactor as a Promising Alternative for the Effective Production of Bioactive Metabolites. *Molecules* **2012**, *17*, 2714–2724. [CrossRef] [PubMed]
23. Wang, D.; Sakoda, A.; Suzuki, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Bioresour. Technol.* **2001**, *78*, 293–300. [CrossRef]
24. Zielinski, H.; Kozłowska, H. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Cereal Grains and Their Different Morphological Fractions. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2008–2016. [CrossRef] [PubMed]
25. Simsabugh, R.L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biol. Biochem.* **2010**, *42*, 391–404. [CrossRef]
26. Vergara, H.; Gandul, B.; Roca, M. Formation of oxidised chlorophyll catabolites in olives. *J. Food Comp. Anal.* **2011**, *24*, 851–857. [CrossRef]
27. Granito, M.; Paolini, M.; Pérez, S. Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* extreme conditions and processed. *LWT Food Sci. Technol.* **2008**, *41*, 994–999. [CrossRef]
28. Giardina, P.; Palmieri, G.; Fontanella, B.; Rivieccio, V.; Sanna, G. Manganese Peroxidase Isoenzymes Produced by *Pleurotus ostreatus* Grown on Wood Sawdust. *Arch. Biochem. Bioph.* **2000**, *376*, 171–179. [CrossRef] [PubMed]
29. Cardador, M.A.; Loarca, P.G.; Dave, O.B. Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6975–6980. [CrossRef]
30. Peterson, M. Oats Antioxidants. *J. Cereal Sci.* **2001**, *33*, 115–129. [CrossRef]
31. Labareiah, M.; Luh, B. Changes of starch, crude fiber, and oligosaccharides in germinating dry beans. *Cereal Chem.* **1981**, *58*, 135–138.
32. Sharma, R.; Acra, D. Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect of improved nutritive quality. *Crit. Rev. Microbiol.* **2015**, 1–9. [CrossRef] [PubMed]

33. Xu, B.J.; Chang, S.K. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by processing methods. *J. Food Sci.* **2008**, *73*, H19–H27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Bouayed, J.; Hoffmann, L.; Bhee, T. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* **2011**, *128*, 14–21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Mojica, L.; Chen, K.; González, E. Impact of Commercial Precooking of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) on the Generation of Peptides, After Pepsin–Pancreatin Hydrolysis, Capable to Inhibit Dipeptidyl Peptidase-IV. *J. Food Sci.* **2014**, *80*, H188–H198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Ribeiro, D.; Patto, C.M.; Pinto, M. In vitro protein digestibility of enzymatically pre-treated bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour using commercial protease and *Bacillus* sp. protease. *Food Sci. Technol.* **2010**, *30*, 94–99.
37. Staszewska-Janiszewska, A.; Stodolak, B.; Mielkowska, B. Effect of controlled lactic acid fermentation on selected bioactive and nutritional parameters of tempeh obtained from unhulled common bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *94*, 359–366. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Mkandawire, N.L.; Weier, S.A.; Welker, C.L.; Jackson, D.S.; Rose, D.J. Composition, in vitro digestibility, and sensory evaluation of extruded whole grain sorghum breakfast cereals. *DWT Food Sci. Technol.* **2015**, *62*, 662–667. [[CrossRef](#)]
39. Tripathi, J.P.; Yadav, J.S. Optimisation of solid substrate fermentation of wheat straw into animal feed by *Pleurotus ostreatus* A pilot effort. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2015**, 662–667. [[CrossRef](#)]
40. Aw, T.L.; Swanson, B.G. Influence of Tannin on *Phaseolus vulgaris* Protein Digestibility and Quality. Authors T-L. *J. Food Sci.* **1985**, *50*, 67–71. [[CrossRef](#)]
41. Fan, L.; Pandey, A.; Mohan, R.; Soccol, C.R. Use of Various Coffee Industry Residues for the Cultivation of *Pleurotus ostreatus* in Solid State Fermentation. *Eng. Life Sci.* **2000**, *20*, 41–52.
42. Rodrigues, J.M.; Albino, S.; Pereira, D.; Dias, M.; Soares, J.; Cuqnetto, H.; Maguati, M.C. Production of edible mushroom and degradation of antinutritional factors in jatropha biodiesel residues. *Food Sci. Technol.* **2013**, *50*, 575–580.
43. Diaz, A.M.; Caldas, G.V.; Blair, M.W. Concentrations of condensed tannins and anthocyanins in common bean seed coats. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 595–601. [[CrossRef](#)]
44. Martínez, D.A.; Buglione, M.B.; Filippi, M.V.; Reynoso, L.D.; Rodríguez, G.E.; Agüero, M.S. Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *Agrocybe aegerita* sobre orujos de pera. *Am. Biol.* **2005**, *37*, 1–10. [[CrossRef](#)]
45. Badui, D.S. *Química de los Alimentos*, 4th ed.; Pearson Educación: Ciudad de México, México, 2006; pp. 121–130, ISBN 970-26-0670-5.
46. Hernández, C.; Gutiérrez, G.; Salgado, S. Screening for decolorizing basidiomycetes in Mexico. Screening and Selection of Ligninolytic basidiomycetes with decolorizing ability in Northeast Mexico. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *24*, 465–473. [[CrossRef](#)]
47. Gan, R.; Li, H.; Gunaratne, A.; Sui, Z.; Corke, H. Effects of fermented edible seeds and their products on human health: Bioactive components and bioactivities. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2017**, *16*, 489–531. [[CrossRef](#)]
48. Hu, J.; Duvnjak, Z. The production of a laccase and the decrease of the phenolic content in canola meal during the growth of the fungus *Pleurotus ostreatus* in solid state fermentation processes. *Eng. Life Sci.* **2004**, *4*, 50–55. [[CrossRef](#)]
49. Association of Analytical Communities (AOAC). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 17th ed.; AOAC: Gaithersburg, MD, USA, 2006; ISBN 09355584773-9780935584776.
50. Lamothe, S.; Corbeil, M.M.; Turgeon, S.L.; Britten, M. Influence of cheese matrix on lipid digestion in a simulated gastro-intestinal environment. *Food Funct.* **2012**, *3*, 681–774. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Minekus, M.; Alvinger, M.; Alvito, P.; Ballance, S.; Bohn, T.; Bourlieu, C.; Carrière, F.; Boutrou, R.; Corredig, M.; Dupont, D.; et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—An international consensus. *Food Funct.* **2014**, *5*, 1113–1124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

52. Aruguman, S.; Perumal, S. Effect of indigenous processing methods on phenolics and antioxidant potential of Underutilized legumes *Ancist astricaliformis* and *Parkia roxburghii*. *J. Food Qual.* **2012**, *36*, 99–112. [[CrossRef](#)]
53. Reyes, C.; Cuevas, E.; Milán, J.; Cárdenas, O.; Barrón, J. Solid state fermentation process for producing chickpea (*Cicer arietinum* L.) tempeh flour. Physicochemical and nutritional characteristics of the product. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *84*, 271–278. [[CrossRef](#)]
54. Blanco, A. Importance of some factors on digestibility of black beans (*Phaseolus vulgaris*) and of its amino acids in humans adults. *Guatemala USAC/INCAP* 1983, xi, 134.

Sample Availability: Samples of the compounds are not available from the authors.



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).